



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

" ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DETERMINACION
CUANTITATIVA DE COLESTEROL POR DOS METODOS:
COLORIMETRICO Y ENZIMATICO AUTOMATIZADO "

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

LAURA PATRICIA GARMENDIA HERNANDEZ

DIRECTOR DE TESIS: IBQ. PASCASIO VARGAS ALCANTARA

ASESORES TECNICOS: DR. SADO TH VAZQUEZ ALCANTARA

QFB. MA. DE LOURDES IRIGOYEN CORIA

CUAUTITLAN IZCALLI EDO. DE MEXICO

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	4
Metabolismo del Colesterol	4
Biosíntesis de Colesterol	4
CONTROL DE LA BIOSINTESIS DEL COLESTEROL	15
Inhibición por retroalimentación	17
Ritmo Circadiano	20
Regulación Hormonal	22
CATABOLISMO DEL COLESTEROL	25
Excreción del Colesterol	25
Otros productos del metabolismo del Colesterol	30
ABSORCION DEL COLESTEROL	33
DIGESTION DEL COLESTEROL	37
TRANSPORTE DEL COLESTEROL	40
SINTESIS DE ESTERES DEL COLESTEROL	44
TRASTORNOS DEL METABOLISMO DEL COLESTEROL	45
Aterosclerosis	46

	Pág.
Hipercolesterolemia	50
Cálculos biliares	52
FUNCIONES DE ALGUNOS MEDICAMENTOS QUE DEPRIMEN LOS NIVELES DE COLESTEROL	54
MATERIAL Y METODOS	57
Determinación de Colesterol por el Método colorimétrico	58
Determinación de Colesterol por el Método Enzimático automatizado	61
RESULTADOS	64
DISCUSIONES	77
CONCLUSIONES	80
BIBLIOGRAFIA	83
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS FIGURAS Y CUADROS	88

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

	Pág.
1 Biosíntesis del Mevalonato	8
2 Biosíntesis del Escualeno	12
3 Dos rutas teóricas del Lanosterol a Colesterol	14
4 Etapas de la reducción de colesterol a coprostanol y colestanol	26
5 Formación de ácidos biliares	
6 Formación de algunas hormonas Esteroides	32
7 Digestión y Absorción de Colesterol	36
8	39
9 Mecanismo productor de aterosclerosis e infarto	49
Cuadro A Composición de las lipoproteínas del plasma	42

I N T R O D U C C I O N

Diversas investigaciones han demostrado una correlación entre los niveles elevados de lípidos séricos y la incidencia de ciertas enfermedades, como afecciones coronarias del corazón, aterosclerosis, hipertiroidismo, arteriosclerosis --- (que predispone al infarto del miocardio, trombosis cerebral y otras enfermedades graves), la hipercolesterolemia familiar y xantomatosis, una enfermedad menos frecuente, etc.

Los esteroides pertenecen al grupo de los esteroides; contienen un grupo hidróxilo alcohólico en C_3 y una cadena alifática ramificada, de ocho o más átomos de carbono en C_{17} . El colesterol es el esteroide más abundante en los tejidos animales y se encuentra en forma libre y combinada.

Se encuentra distribuido en todas las células del cuerpo, en especial en el tejido nervioso.

El colesterol distribuido en todas las células se mezcla con los glicéridos y los fosfolípidos y confiere a la mezcla de lípidos la propiedad de absorber agua. Es abundante en las membranas plasmáticas de muchas células animales y se halla presente, en cantidades mucho menores, en las membranas de las mitocondrias y del retículo endoplásmico.

El colesterol está presente en cualquier tipo de alimentación y puede ser absorbido del intestino a la linfa sin necesidad de ser digerido. Es muy soluble en las grasas y poco en el agua, y puede formar ésteres con los ácidos grasos. De hecho, alrededor del 70% del colesterol plasmático se encuentra en forma de ésteres de colesterol.

La mayor parte del colesterol del cuerpo se origina por síntesis (cerca de 1 g/día), mientras que sólo unos 0.3 g/día se suministra en la dieta promedio.

El colesterol ingerido es rápidamente absorbido. La mayor parte de él es esterificado en el intestino, principalmente con ácidos grasos, y absorbido en esta forma por la linfa. También es sintetizado en el tejido hepático, a partir del Acetil-CoA, en la mayoría de las especies animales.

El colesterol absorbido diariamente del tubo digestivo es llamado colesterol exógeno, y el que se forma en las células en gran cantidad se conoce como endógeno. Prácticamente todo el colesterol endógeno, que circula unido a lipoproteínas, es fabricado por el hígado.

En la actualidad es muy importante la determinación de colesterol por la relación que tiene con las enfermedades - antes mencionadas, que ocasionan un gran número de muertes, y - en la prevención y el control de las mismas.

Los métodos más utilizados actualmente para su de-- terminación son: método colorimétrico y método enzimático.

Actualmente la combinación de autoanalizadores y mé-- todos enzimáticos es de gran utilidad para el estudio de la -- frecuencia de dislipidemias en una población que cada día es - mayor.

Por su estructura química, el análisis cuantitativo del colesterol requiere de solventes orgánicos volátiles e in-- flamables que propician errores y riesgos.

La presente tesis profesional tiene como propósito - adaptar el método enzimático a la automatización y comparar la determinación de colesterol por los dos métodos: colorimétrico y enzimático automatizado y, mediante un análisis estadístico, hacer la correlación para demostrar cuál método es más confia-- ble. Por su rapidez, precisión y exactitud; el método enzimá-- tico automatizado permite llevar a cabo mayor número de deter-- minaciones en una población numerosa, ayudando así a la medici-- na preventiva.

Un propósito adicional es satisfacer la necesidad - de establecer los valores de referencia del método enzimático-- automatizado en una población que fluctúa entre 20 y 40 años.

GENERALIDADES

METABOLISMO DEL COLESTEROL

BIOSINTESIS DEL COLESTEROL

El colesterol del organismo humano se obtiene de -- dos maneras: a través de la dieta o por síntesis que los tejidos humanos llevan a cabo a partir del acetyl-CoA. Esta última puede derivar de carbohidratos, aminoácidos o ácidos grasos.

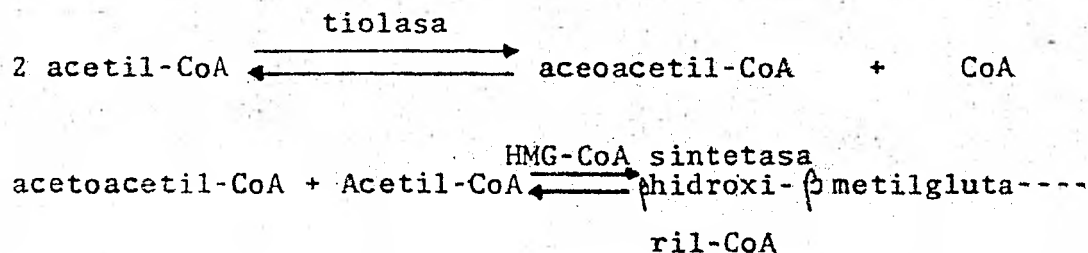
El hígado es el principal sitio de síntesis de colesterol; sin embargo, el intestino también es un sitio importante de síntesis en el hombre.

La mayoría de las etapas de la síntesis enzimática del colesterol se conocen ahora con algún detalle gracias a -- los importantes trabajos de Bloch, en los Estados Unidos, de Lynen, en Alemania y de Popjak y Cornforth, en Gran Bretaña -- (1). Sus interesantes análisis de este proceso revelaron nuevos metabolitos intermediarios e iluminaron en gran manera el-

esquema de la biosíntesis de muchos otros productos naturales complejos, particularmente de los terpenos. Los trabajos comenzaron en 1940 y se demostró que los átomos de carbono de un acetato uniformemente marcado con ^{14}C administrado a ratas y perros, se incorporan al colesterol de hígado. Se halló que tanto el núcleo esteroide como la cadena lateral de ocho átomos de carbono aparecían marcados. De la comparación de resultados obtenidos con acetato marcado en el grupo metilo con los del que se marcó en el grupo carboxilo, se dedujo que ambos átomos de carbono del ácido acético se incorporan al colesterol en cantidades iguales aproximadamente. De hecho, se observó que todos los átomos de carbono del colesterol derivan del acetato.

La senda sintética puede ocurrir a través de tres etapas. Basándose en los experimentos de Bloch y colaboradores y otros investigadores, se puede reconstruir la secuencia de reacciones entre el acetato y el colesterol.

Primera etapa.- Consideramos la etapa de conversión del acetato en ácido mevalónico. La serie inicial de reacciones comprende la formación de β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA a partir de tres moles de acetil-CoA (Fig. 1).



Puede también obtenerse en la degradación metabólica de la leucina. El β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA es un producto intermediario en la desacilación del acetoacetyl-CoA (1). El β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA es el precursor inmediato del ácido mevalónico.

Se han descrito dos vías separadas para la formación del mevalonato. Una implica al intermediario β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA y la otra se hace a través de un complejo β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-S-enzima. Se considera que la vía a través de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA es cuantitativamente más significativa y sigue el mismo orden de sucesión de las reacciones de síntesis de cuerpos cetónicos. Sin embargo, puesto que la síntesis de colesterol es extramitocondrial, las dos vías son distintas. Así pues hay dos reservas de β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA: una en las mitocondrias encargada de la cetogénesis- y la otra extramitocondrial -que interfiere en la síntesis de unidades isoprenoideas y colesterol-. También se ha propuesto que la vía implica la formación de melonil-CoA, pero esto es inverosímil porque la avidina, que inhibe a las enzimas ligadas a la biotina, como la acetil-CoA carboxilasa, no inhibe la producción del mevalonato a partir de la acetil-CoA (2).

Aunque el β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA puede experimentar escisión enzimática y formar acetoacetato más acetil-CoA, también puede sufrir reducción de uno de sus grupos carboxilo y pérdida de CoA por la acción de la β -hidroxi- β -

metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa), para rendir - ácido mevalónico (Fig. 1).

Esta compleja reacción, que es reversible y tiene - lugar por lo menos en dos etapas, puede ser un importante punto de control de la biosíntesis del colesterol.

Como se mencionó anteriormente, la formación del -- ácido mevalónico se puede efectuar por otra senda, que en prin cipio es igual a la anterior pero en la cual el acetil-CoA --- reacciona con en acetoacetil-S-ACP (Proteína portadora acílica) formando β -hidroxi- β -metilglutaril-S-ACP, el cual es entonces reducido a ácido mevalónico. Este camino es el que sigue en - la porción soluble del citoplasma.

La enzima β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA reductasa es una enzima microsomal y requiere de dos moléculas de NADPH. Una propiedad peculiar de estas enzimas es que después son so lubilizadas por los microsomas, son inestables a bajas tempera turas y se inactivan por almacenaje a 0°C durante 30 min.

La reacción comprende la reducción de uno de los -- grupos carboxilo del hidroximetilglutaril-CoA y es la etapa -- crítica en la que pueden ejercer sus efectos los factores que inducen a la síntesis de colesterol.

El ácido mevalónico se forma también por condensa-- ción del acetil-CoA con proteína portadora de acetoacetil aci lo, compuesto intermedio de la síntesis de ácidos grasos, dan do lugar a hidroximetilglutarato enlazado a la proteína, que -

BIOSINTESIS DEL MEVALONATO

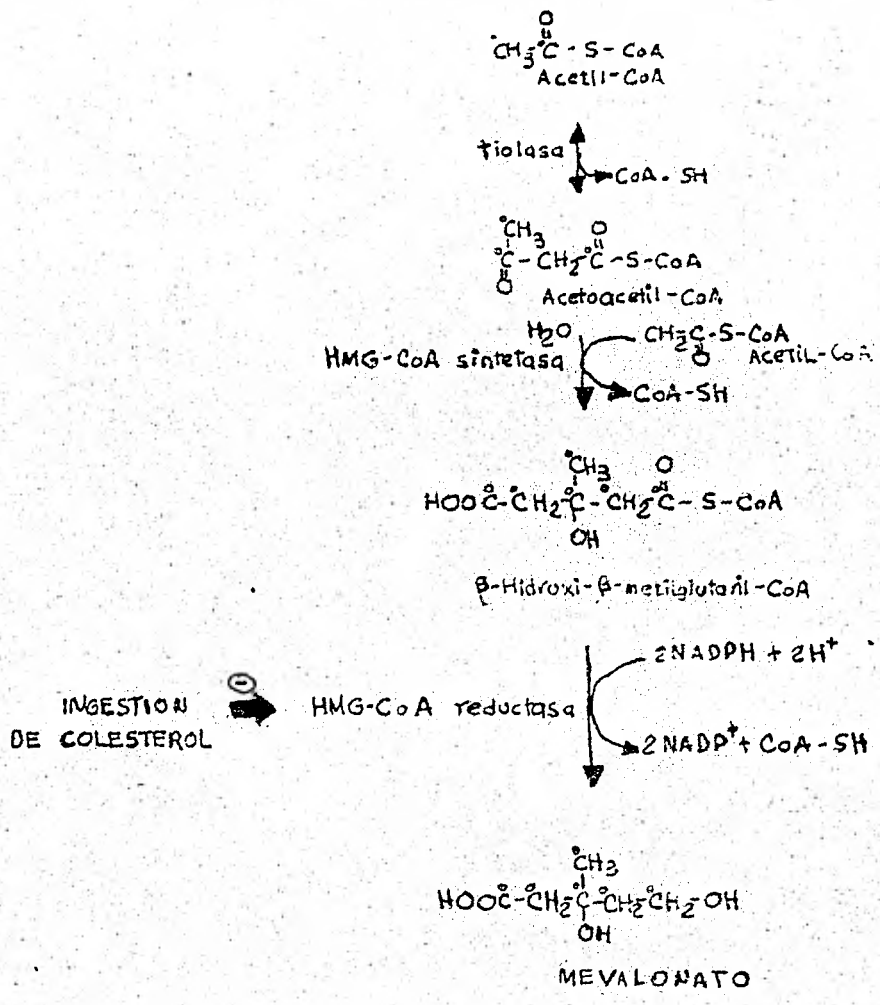
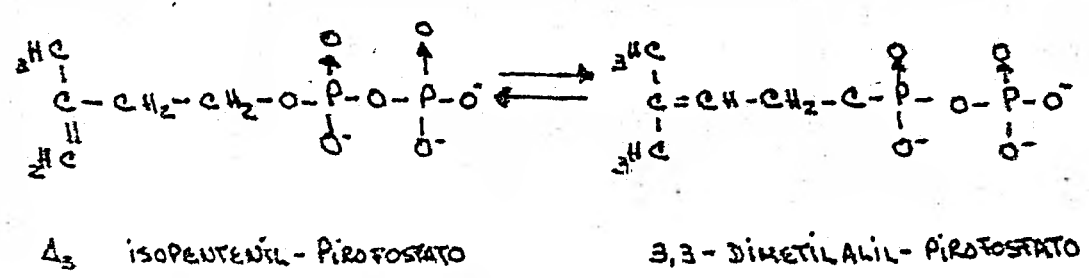


FIG. 1

puede ser el sustrato en la reducción a mevalonato. Se ha hecho una consideración previa a la escisión de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA a acetil acetato: el hígado de animales en ayunas, con formación reducida de colesterol, presenta una actividad reducida de la β -hidroxi- β -metilglutaril reductasa.- Esto podría incrementar relativamente la reacción de escisión y ofrecer una explicación del aumento de la cetogénesis que -- acompaña al estado en ayunas.

Segunda etapa.- La biosíntesis del esteroles tiene lugar por condensación de seis unidades de 5 átomos de carbono, cada uno de los cuales procede del mevalonato.

El ácido mevalónico se convierte en escualeno. Esta secuencia reaccional comienza con la fosforilación del ácido mevalónico por el ATP (Fig. 2): primero se forma el éster 5'-monofosfato y después el 5'-pirofosfato. Una tercera fosforilación en el carbono 3 rinde un producto intermedio muy inestable que pierde ácido fosfórico y se descarboxila formando -- 3-isopentenil-pirofosfato, el cual se isomeriza a 3-3'-dimetilalil-pirofosfato (ver la reacción).



Estos dos isoprenil-pirofosfatos-isómeros se condensan con eliminación de ácido pirofosfórico y forman el monoterpeno trans-geranil-pirofosfato. Entonces reacciona un tercer isoprenil-pirofosfato con eliminación de ácido pirofosfórico y produce el derivado sesquiterpénico trans-farnesil-pirofosfato. Se cree que este último compuesto experimenta una condensación reductora con isómero dimetil-alílico, concretamente el nerolidol-pirofosfato, y rinde el escualeno (Fig. 2).

Los isómeros formados en la secuencia anterior son las sustancias claves en la síntesis poli-isoprenoide y son la base de las reacciones subsiguientes de enlace carbono-carbono en la formación del esterol (Fig. 2). El pirofosfato de dimetilalilo es un reactivo electrofílico en virtud de su enlace doble y de su esterificación con un ácido fuerte, mientras que el pirofosfato de isopentilo es un reactivo nucleofílico debido a su carbono metilo unido por doble enlace terminal (1).

Tercera etapa.- En la última de las etapas principales de la síntesis del colesterol, el escualeno es transformado en una configuración esteroideal tetracíclica. Una epoxidasa de escualeno cataliza la conversión del escualeno en el 2,3-óxido. Este sufre después un ciclo anaeróbico catalizado por la ciclasa del óxido de escualeno, y pasa a lanosterol. Este sistema enzimático en el hígado cicla al escualeno a lanosterol exclusivamente lo que hace pensar que otros sistemas enzimáticos que ciclan al escualeno deben presentarse en otras formas, incluyendo las plantas, para dar razón de la formación

de otros triterpenos y esteroides (3). Se supone que el mecanismo de ciclización del escualeno comprende un ataque electrofílico inicial por un oxidante oxígeno molecular activado, cuya identidad se desconoce.

Los desplazamientos electrónicos que siguen al ataque electrofílico conduce al cierre del anillo y a la formación de un ión carbonio intermedio y transitorio. El lanosterol puede proceder de éste por una serie de desplazamientos concertados de hidruro y metilo (3,11).

La transformación de lanosterol en colesterol requiere la separación de tres grupos metílicos angulares, la saturación de los enlaces dobles de la cadena lateral y la unión C,D del anillo e introducción del enlace doble en la posición 5,6. La separación de los grupos metílicos es un proceso oxidante. Los átomos de carbono eliminados aparecen como dióxido de carbono; se desconoce el mecanismo de esta desmetilación. El formaldehído no es un compuesto intermedio, indicando que la separación del carbono puede ocurrir por descarboxilación, aunque los ácidos carboxílicos intermedios no han sido aislados. El demosterol, que se supone es un compuesto intermedio en la formación del colesterol, se ha aislado a partir de los tejidos y se acumula en cantidades excesivas después de una administración prolongada de algunas sustancias que interfieren con la biosíntesis del colesterol (Fig. 3). (3).

Pueden suponerse otros procesos para la conversión de lanosterol en colesterol, tomando como base el aislamiento

BIOSINTESIS DEL ESCUALENO

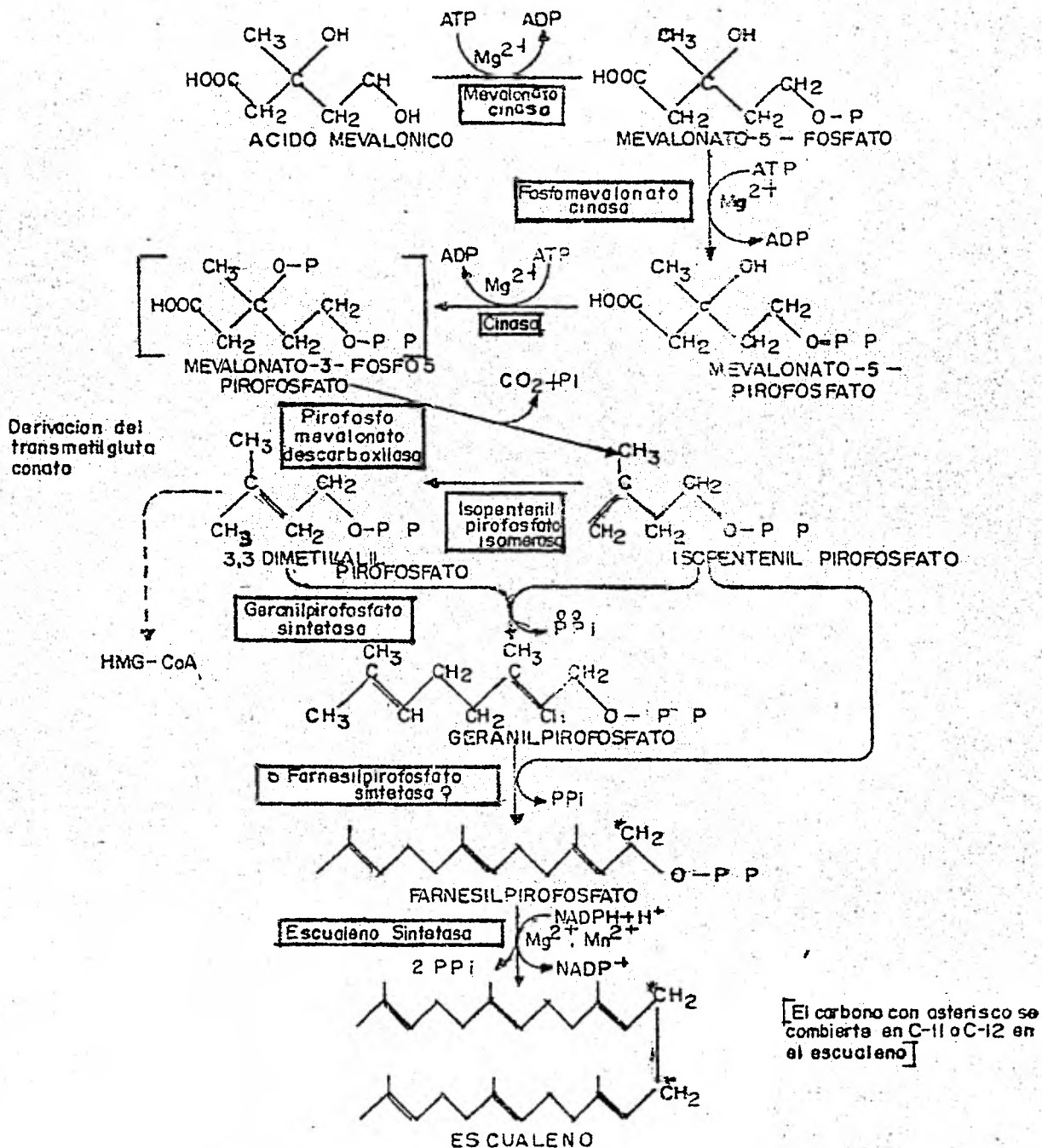
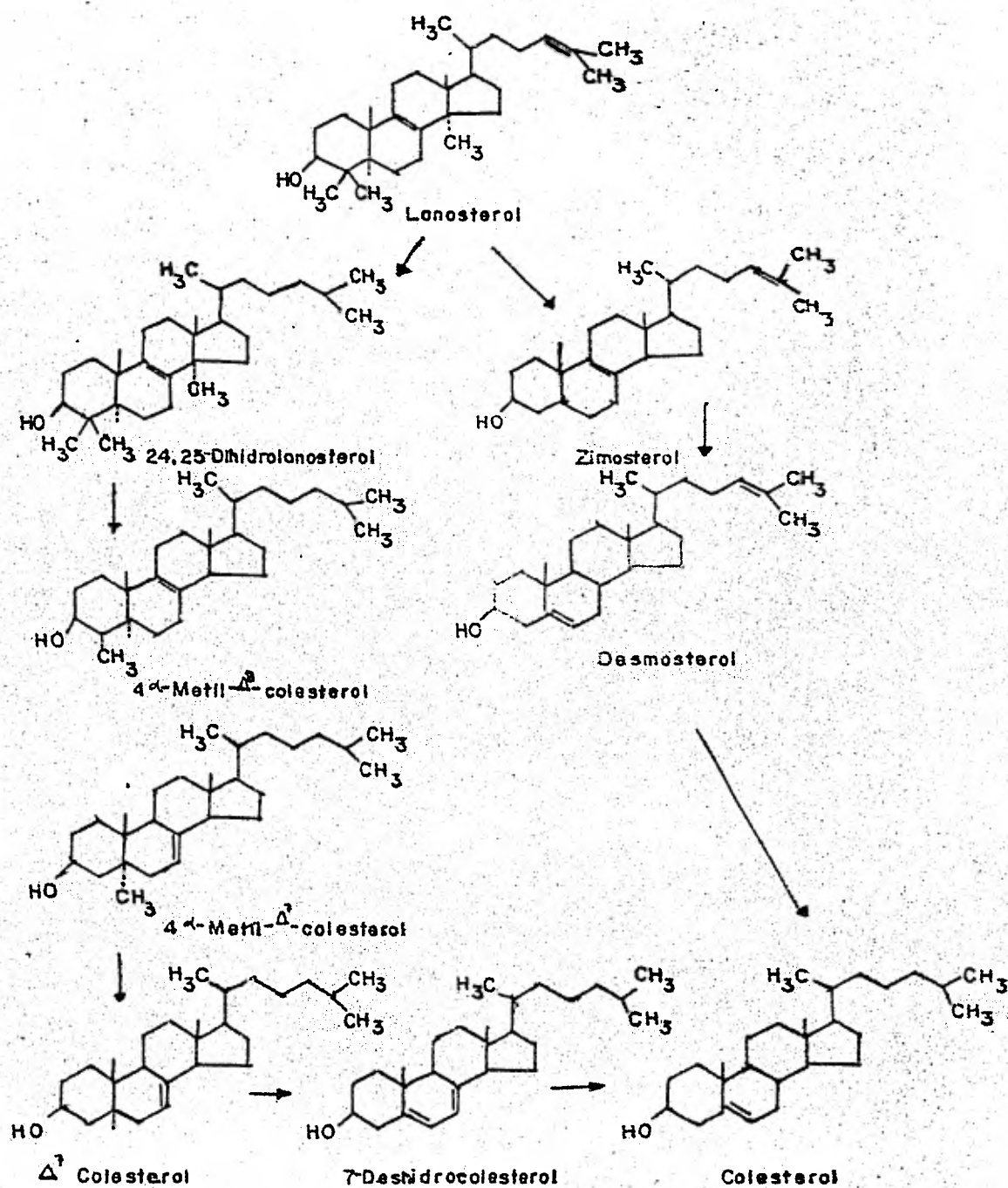


FIG. 2

de otros posibles compuestos intermedios. Así, el 4 α -metil- Δ^7 -colest-en-3 β -ol marcado fue aislado de la piel, del hígado y del intestino delgado de ratas inyectadas con acetato marcado con ^{14}C . Además si se administraba a las ratas este esteroide se convertía rápidamente en colesterol. (Ver Fig. 3). También ha sido aislado el 4 α -metil- Δ^8 -colest-en-3 β -ol a partir de los tumores de la glándula prepuncial de los ratones. Finalmente, el 24,25-dihidrolanosterol, el 4 α -metil- Δ^8 -colest-en-3 β -ol, el Δ^7 -colest-en-3 β -ol y el 7-deshidrocolesterol en preparaciones homogéneas exentas de células del hígado. El orden en que tienen lugar las etapas individuales en la conversión de lanosterol en colesterol aún es incierto (Fig. 3).

Aunque todos los átomos de carbono del colesterol pueden proceder del acetato, en la biosíntesis del ergosterol por la levadura el átomo de carbono adicional, un grupo metilo en C-24, tiene su origen en una reacción de metilación con 2'-adenosilmetionina. El mevalonato se ha considerado también como fuente de la cadena lateral del lado isoprenoide en la biosíntesis de los carotenoides y de la coenzima Q y sirve como precursoros de los hidrocarburos del caucho (3).

DOS RUTAS TEORICAS DEL LANOSTEROL A COLESTEROL.



Das rutas teoricas del lanosterol a colesterol basadas en datos actuales. El proceso via 7-deshidrocolesterol parece el mas probable, aunque ambos procesos, y otros, pueden existir.

FIG. 3

CONTROL DE LA BIOSINTESIS DEL COLESTEROL

Varios factores desempeñan un papel en el control del metabolismo del colesterol, que es el principal esterol de los mamíferos. Todos los factores ejercen sus efectos alterando la velocidad de síntesis o degradación del esterol.

La síntesis del colesterol es regulada por la ingestión de colesterol en la dieta, calorías, algunas hormonas y ácidos biliares. Los estrógenos, hormonas del sexo femenino, también inhiben la síntesis por reducción de la formación de HMGCoA (Hidroxi-metilglutaril-CoA) a través de un efecto sobre la enzima β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa. La inanición disminuye la síntesis por disminución en la disponibilidad del acetil-CoA, ATP, NADH. Los ácidos biliares tienen un efecto inhibitorio directo en la síntesis de colesterol en la mucosa intestinal (4).

El hígado es el lugar más importante de la síntesis

de colesterol, aunque otros tejidos como el intestino, las glándulas adrenales, la piel, el tejido nervioso, la aorta y los órganos reproductores, también pueden sintetizarlo. Excepto para el tejido nervioso, el colesterol de los tejidos presenta una renovación continua. Sin embargo, puede haber en algunos tejidos, por ejemplo el adrenal, depósitos de reserva de dos tipos: unos pequeños y de rápida renovación y otros más bien grandes y no renovables.

Un aumento de la cantidad de colesterol ingerido cada día eleva ligeramente la concentración en el plasma. Sin embargo, existe una regulación intrínseca por retroalimentación, cuando se ingiere mucho colesterol el hígado compensa el aumento fabricando menos colesterol endógeno. (5).

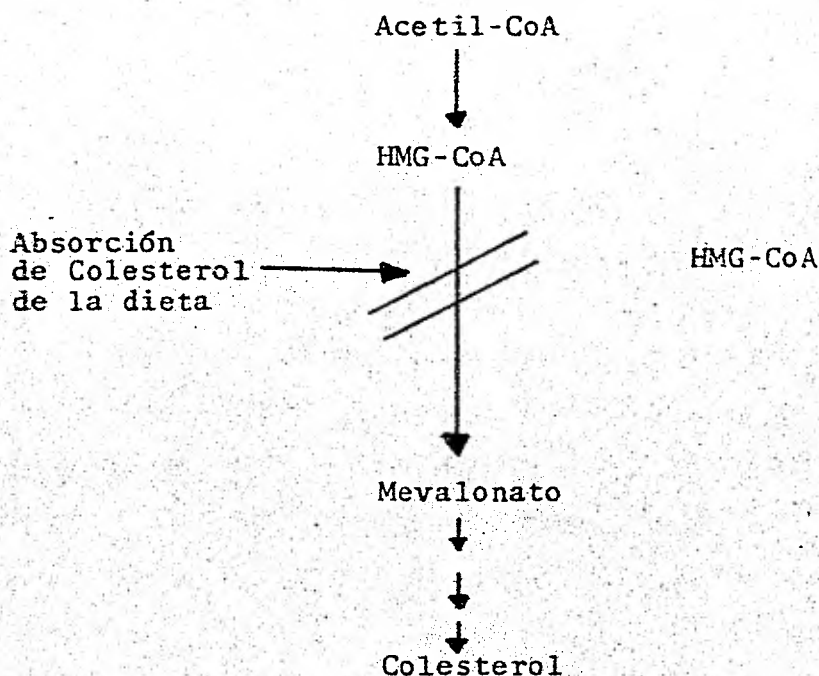
El efecto de las variaciones en la cantidad de colesterol en la dieta sobre la producción endógena en ratas, ha sido estudiada. Cuando había sólo 0.05% de colesterol en la dieta, el 70-80% del colesterol del hígado, intestino delgado y glándulas adrenales fue sintetizado dentro del cuerpo, mientras que con una dieta que contenía 2% de colesterol, la producción endógena descendió a 10-30%. Sin embargo la producción endógena no puede ser suprimida completamente al elevar la ingestión alimentaria. Parece que la síntesis hepática es inhibida.

INHIBICION POR RETROALIMENTACION

El colesterol no es por sí mismo, inhibidor de la síntesis de colesterol intestinal, pero tiene un fuerte efecto inhibidor de retroalimentación sobre la síntesis de colesterol en el hígado.

El colesterol absorbido de la dieta inhibe la senda biosintética en el hígado por decremento de la reacción de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA reductasa. Originalmente se pensó que el colesterol inhibía directamente a la enzima, tal vez como un efecto alostérico negativo. En vista de que el colesterol es el producto final de la senda biosintética, la regulación es llamada inhibición por retroalimentación. Estudios subsecuentes con cultivos de células (hepáticas) indican que la regulación ocurre por cambios en el contenido de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa y no por regulación alostérica de la enzima preexistente. Medidas hechas en hígado de rata indican que la vida media de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa es aproximadamente de 4 horas. Por consiguiente, si la síntesis de la enzima es reducida o interrumpida, el contenido dentro de los hepatocitos disminuye apreciablemente después de pocas horas. La biosíntesis del colesterol se vuelve lenta a causa del agotamiento de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa. Aún cuando la posibilidad adicional del efecto alostérico negativo del colesterol no puede ser excluido, la evidencia disponible indica que el colesterol es media-

do primariamente a través de cambios en el contenido de la enzima (Ver Fig. mostrada abajo).



Trabajos recientes con cultivos celulares indican que algunos derivados oxigenados del colesterol, incluyendo el 7β -hidroxicolesterol, 7α -hidroxicolesterol y 7-cetocolesterol, son inhibidores mucho más potentes de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa que el mismo colesterol (6).

Aún no se ha localizado un segundo punto de control, pero está en la serie de reacciones que transforman el escualeno en colesterol, posiblemente en la conversión de escualeno a lanosterol (7).

En la sangre se han notado alteraciones en el nivel de colesterol como respuesta a los cambios en el grado de saturación de los ácidos grasos dietéticos. Cuanto más saturados sean los ácidos grasos de la dieta, mayor es la concentración de colesterol en el suero.

Como se indicó anteriormente, el hígado desempeña un papel importante en la degradación del colesterol. La proporción en que el colesterol se convierte en sus metabolitos, incluyendo los ácidos biliares, influenciará la cantidad de colesterol que el hígado excreta en la bilis y, como consecuencia, la cantidad del esteroide que se absorbe del intestino. Por eso, tanto este colesterol como el que procede de la dieta influyen en la velocidad de la síntesis del colesterol.

Estudios con fibroblastos de piel de pacientes que poseen el homocigoto para la hiperlipoproteíнемia tipo II A, indican que la inhibición por retroalimentación de la síntesis de colesterol es defectuosa en esta enfermedad. Estos pacientes tienen una severa hipercolesterolemia, con cifras tan altas como 800 a 900 mg/día (8). Los estudios de fibroblastos indican que hay defecto en la capacidad de la lipoproteína de baja densidad (LBD) para unirse a la superficie de la célula y, como resultado de esto, causa inhibición por retroalimentación de la síntesis de colesterol.

Existen tres explicaciones para entender estas observaciones: la primera es la existencia de un defecto genéti-

co en la membrana receptora de alta-afinidad de la LBD; la segunda es un defecto en el mecanismo por el cual se introduce a la célula subsecuentemente para unirse; la tercera es una excesiva fuga de colesterol de la célula después de que entra.

Prescindiendo del desarreglo del mecanismo, el hecho persiste a pesar de que las células de los pacientes homocigotos tipo II A continúan la producción de colesterol aún cuando sean expuestos a cantidades adecuadas de LBD, considerándose que las células normales presentan inhibición por retroalimentación bajo estas condiciones.

La mayor parte del colesterol que es removido irreversiblemente de el plasma de un ser humano va en forma de LBD. No se conoce, hasta ahora, cómo el defecto celular observado está asociado con la hipercolesterolemia y elevación de LBD, que ocurre clínicamente en pacientes con el tipo II A.

RITMO CIRCARIANO

Basado sobre estudios efectuados en animales, la síntesis de colesterol también parece variar a diferentes tiempos durante el día.

Estos efectos, conocidos como ritmo circadiano, ocurren predominantemente en el hígado.

En ratas con libre acceso al alimento y al agua, conservadas en una habitación que posea iluminación de las 6 a.

m. a 6 p.m. y oscuridad desde las 6 p.m. a las 6 a.m., se observó que la síntesis de colesterol fue más alta en la media noche y más baja al medio día. La actividad de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa aislada en una fracción microsomal de estos hígados exhibió una variación diurna idéntica, -- más alta en la media noche y más baja al medio día. Por consiguiente, la variación circadiana en la síntesis de colesterol es secundaria a cambios en la actividad de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa (HMGCoA-reductasa), al valor límite de la enzima en la senda biosintética del colesterol.

Bajo estas condiciones, los animales comenzaron a comer pronto después de que las luces se apagaron. Aún cuando son adiestrados a comer entre 9 a.m. y la 1 p.m. bajo las mismas condiciones ambientales, la máxima síntesis de colesterol cambia y ocurre 3 horas después de alimentarse. Estos resultados sugieren que el ritmo circadiano que ocurre está relacionado con el tiempo en el cual el alimento es ingerido. La comida de los animales es usualmente baja en colesterol.

Experimentos en hígados perfundidos han demostrado que el suero hipercolesterolémico inhibe la síntesis del esteroide. Hay una variación entre las especies en cuanto a la importancia relativa del hígado como fuente de colesterol endógeno. En el hombre es más importante la síntesis extrahepática, principalmente intestinal, mientras que en el perro y en la ratona el hígado es responsable de la mayor parte de la síntesis de colesterol. Los ácidos biliares, más que el colesterol inhi

ben la síntesis de éste en el intestino. Un sistema de control semejante en el paso de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-reductasa también parece actuar. Experimentos in vitro más recientes han demostrado que la síntesis de colesterol es inhibida por el AMPc (3',5'-adenosinmonofosfato), indicando que una o más reacciones en la vía sintética pueden ser controladas -- por una proteincinasa dependiente del AMPc (2).

Los dos mecanismos conocidos que gobiernan la síntesis de colesterol en el hígado normal, el de la refección y el calórico, se pierden cuando las células hepáticas presentan -- cambios malignos.

Sipertein ha propuesto el mecanismo de refección mediante el cual es inhibida la HMGCoA-reductasa por el colesterol en el hígado. Ya que no se puede demostrar una inhibición directa de la enzima por el colesterol, éste puede actuar ya -- por la represión de la síntesis de nueva reductasa o induciendo la síntesis que degrada a la reductasa existente (2).

REGULACION HORMONAL

Además de la dieta diversas hormonas afectan notablemente la velocidad de síntesis y degradación del colesterol. También operan por medio de efectos en la actividad de la HMG-CoA-reductasa, probablemente por control en la producción de -- la enzima.

Diversas hormonas afectan notablemente la velocidad

de la síntesis y degradación del colesterol. Previamente se ha hecho referencia al aumento de la síntesis del colesterol en la diabetes. Es evidente que la carencia de insulina incrementará la formación de colesterol, si bien indirectamente, como consecuencia del metabolismo acelerado de ácidos grasos debido a una incapacidad de utilización de hidratos de carbono como fuente de energía.

La falta de hormona tiroidea eleva el colesterol sanguíneo y el hipertiroidismo lo disminuye. Se piensa que se trata de una consecuencia del aumento del metabolismo lípido por la tiroxina.

El colesterol sanguíneo sube mucho en caso de diabetes sacarina. También parece ser debido al aumento de metabolismo de grasas que acompaña a este estado.

Las hormonas sexuales femeninas, o estrógenos, reducen el colesterol sanguíneo; en cambio, las hormonas sexuales masculinas, o andrógenos, aumentan este colesterol. Por desgracia no se conoce el mecanismo de estas reacciones, pero los efectos relacionados con el sexo son muy importantes, ya que el colesterol alto en el hombre se acompaña de una mayor frecuencia de ataque cardíaco.

En las enfermedades de retención renal el colesterol sanguíneo aumenta considerablemente y lo mismo ocurre con los triglicéridos y los fosfoglicéridos de la sangre. Esto parece ser debido a inhibición de la lipasa de lipoproteínas del

plasma, con eliminación de lipoproteínas sanguíneas, lo que --
significa aumento considerable de su concentración (9).

CATABOLISMO DEL COLESTEROL

EXCRECION DEL COLESTEROL

El colesterol es el precursor de varios tipos de esteroides, tales como los esteroides fecales, los ácidos biliares y las hormonas esteroides. Las principales formas de excreción de esteroides en los mamíferos con el colesterol y los isómeros coprostanol y el colestanol; éstos se forman a partir del colesterol por acción microbiana y la única diferencia entre los dos empieza con el átomo de hidrógeno entre los anillos A y B: en el coprostanol tiene una β -orientación y en el colestanol una α -orientación. El coprostanol es el principal esteroide en las heces: se forma del colesterol en el intestino grueso por acción de las bacterias residentes (Fig. 4).

La vía principal de degradación del colesterol en los animales en términos de las cantidades formadas, es su conversión en ácidos biliares, proceso que tiene lugar en el híg

ETAPAS DE LA REDUCCION DE COLESTEROL A COPROSTANOL Y COLESTANOL

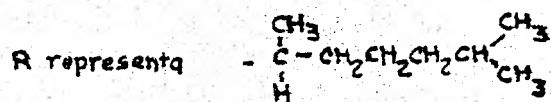
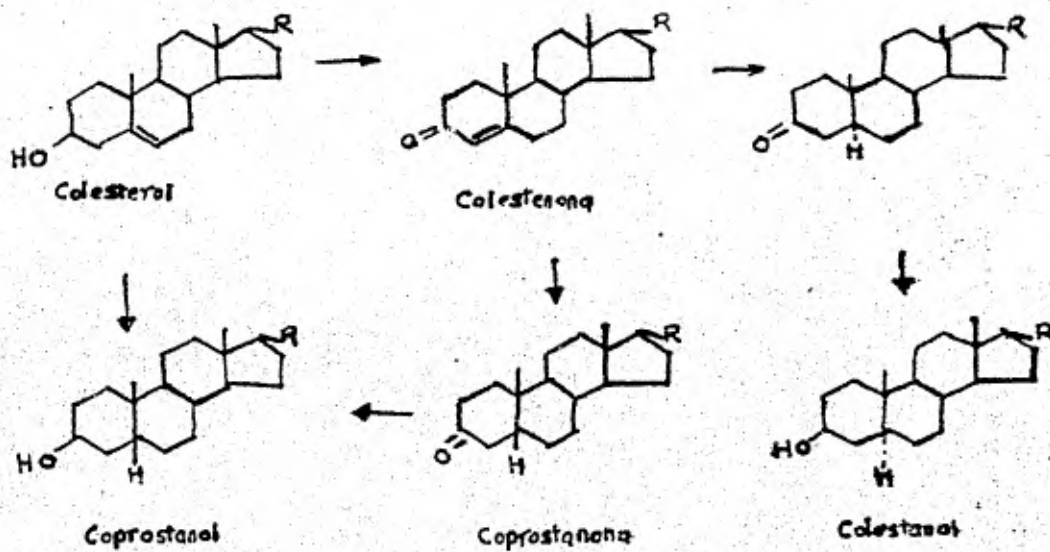


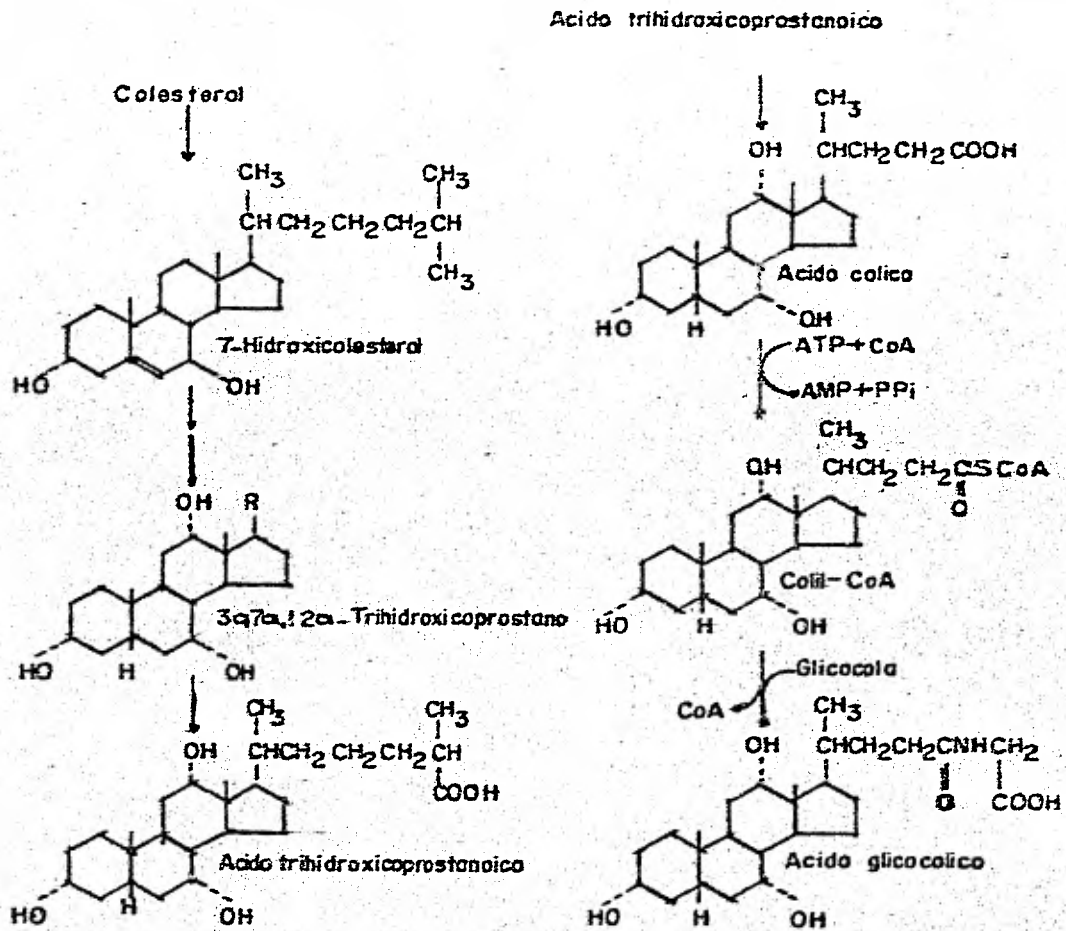
FIG. 4

do.

Aproximadamente la mitad del colesterol eliminado del cuerpo es excretado en las heces después de ser convertido en sales biliares.

Un 80% del colesterol metabolizado es transformado por los tejidos hepáticos en diversos ácidos biliares. En este proceso, la hidroxilación del colesterol se completa más o menos antes de que finalice la degradación de la cadena lateral, si bien algunos resultados sugieren que el acortamiento de la cadena lateral del colesterol puede proceder a la hidroxilación de la estructura cíclica. Para pasar del colesterol al ácido cólico se forman sucesivamente 7 α -hidroxicolesterol, 3 α ,7 α -dihidroxicoprostanol y 3 α ,7 α ,12 α -trihidroco--prostánico (ver Fig. 5). Este último compuesto se transforma en la CoA derivado del ácido 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxicoprostánico; la oxidación de la cadena lateral conduce a la formación del colil CoA. El acortamiento de la cadena lateral comprende una eliminación inicial de tres átomos de carbono terminales. Es una secuencia oxidante donde aparece como CO₂ un grupo metilo terminal. Un derivado de - β cetoacil-CoA, que mediante una reacción típica de la β -cetotiolasa daría colil-CoA (3) (Fig. 5).

Existen muchos ácidos biliares distintos que, de acuerdo a la especie, varían de modo característico. Poseen una cadena lateral acortada, con un grupo que, frecuentemente, está conjugado con la glicina o con la taurina. Estos compues



FORMACION DE ACIDOS BILIARES

FIG. 5

tos son secretados al intestino delgado y son sustancialmente-reabsorbidos por la vía mucosa colecística e intestinal; entran en el sistema porta y vuelven al hígado. Normalmente muy pocos ácidos biliares escapan en las heces o pasan al hígado para entrar en el sistema cava. Este circuito menor de los ácidos biliares es denominado circulación enterohepática.

Las sales biliares tienen dos acciones importantes en el tubo digestivo. En primer lugar, un efecto detergente sobre las partículas grasas del alimento, lo que disminuye su tensión superficial y permite disolver los ácidos grasos y jabones insolubles en agua. La presencia de la bilis en el intestino es un coadyuvante importante para llevar a cabo la digestión y absorción de las grasas, así como la absorción de las vitaminas liposolubles A, D, E y K. La segunda es que facilitan la absorción de los ácidos grasos monoglicéricos, colesterol y lípidos (7).

Las sales biliares no reabsorbidas o sus derivados, son excretadas en las heces. Las sales biliares experimentan cambios originados por las bacterias intestinales. En el hombre, en circunstancias normales, los ácidos biliares son sintetizados en el hígado a la tasa relativamente baja de 200-500 mg/día, misma que está regulada para restituir justamente la pérdida diaria de ácidos biliares en las heces. Los ácidos biliares se pueden considerar como los productos finales del catabolismo del colesterol en el cuerpo. Estos compuesto, junto con el propio colesterol que también se encuentra en la bilis,

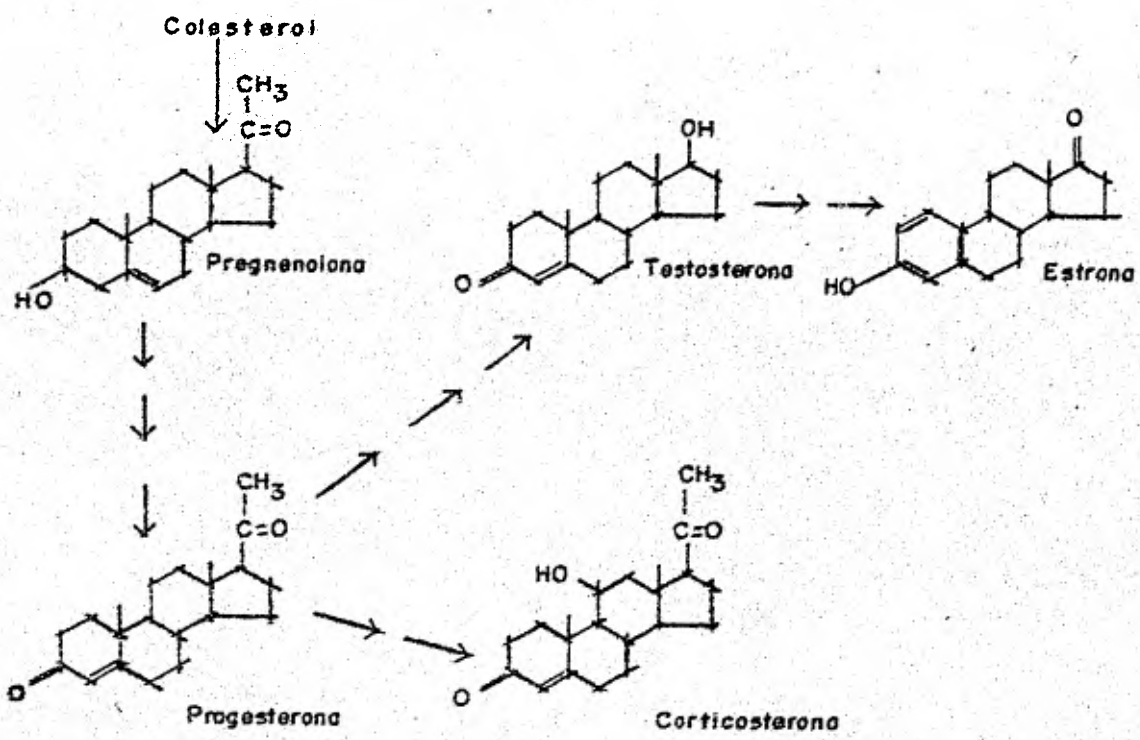
representan la única ruta importante para la eliminación del colesterol del cuerpo. Debido a que los tejidos no pueden demoler el núcleo esteroide, éste debe ser convertido en varios derivados esteroideos que se pueden eliminar como tales. La medición de la salida es, por lo tanto, la manera más exacta de estimar la cantidad de colesterol perdido por el cuerpo.

OTROS PRODUCTOS DEL METABOLISMO DEL COLESTEROL

Otro destino importante del colesterol está relacionado con el origen de las hormonas esteroideas. Las enzimas solubles denominadas desmolinas y oxidasas del colesterol, de las glándulas adrenales, de los testículos y de los ovarios, catalizan la escisión de la cadena lateral del colesterol, entre C-20 y C-22, dando pregnenolona y el isocaproaldehído o el ácido, según las condiciones. La reacción requiere NADPH y oxígeno molecular y se activa mucho con Mg^{++} o Ca^{++} . En las glándulas adrenales se identificó un 20α y 22-dihidrocolesterol como compuesto intermedio. La degradación de la cadena lateral del colesterol en los órganos que producen hormonas esteroideas difiere del modo de escisión de la cadena lateral en la formación de los ácidos biliares en el hígado. La pregnenolona es precursora de la progesterona (fig. 6), hormona progesterante de la placenta y del cuerpo lúteo, de los andrógenos u hormonas del sexo masculino, como la testosterona, de los estrógenos u hormonas sexuales femeninas, como la estrona, y de los corticosteroides adrenales, como la corticosterona.

La pregnenolona ejerce una influencia reguladora re

troactiva sobre la esteroideogénesis del colesterol por inhibi
ción de la anterior conversión del colesterol en pregnenolona-
por las desmolasa (Fig. 6).



FORMACION DE ALGUNAS HORMONAS ESTEROIDES

FIG. 6

ABSORCION DEL COLESTEROL

El colesterol se encuentra en todos los tejidos animales, por lo que todos los carnívoros ingieren este esterol. El hombre puede absorber fácilmente cantidades de colesterol en su dieta; más gente en comunidades orientales consume entre 600 y 1000 mg/día de colesterol y absorbe de 300 a 400 mg/día. Cuando la admisión alimenticia es relativamente pequeña, la absorción es completamente eficiente. Sin embargo, cuando la admisión excede aproximadamente 500 mg/día, la absorción de colesterol se torna menos eficiente y sólo un poco más de 30-35% de la admisión es absorbida.

La absorción del colesterol desde el intestino se realiza exclusivamente por los quilíferos intestinales y de allí va al conducto torácico. La absorción de colesterol depende, casi absolutamente, de la presencia de las sales biliares en la cavidad intestinal. En el proceso de absorción la

mayor parte del colesterol se esterifica con ácidos grasos y aparece en los micrones del quilo linfático como ésteres del colesterol. Por acción bacteriana en el intestino sobre el colesterol se forman dos productos, a saber, el β -colestanol y el coprosterol, que se absorben muy poco en el conducto gastrointestinal y se encuentran abundantemente en las heces (Fig. 7) Se ha demostrado que algunos esteroides, por ejemplo el β -sitosterol, interfieren en la absorción del colesterol como lo hacen diversas sustancias. Así, el cloruro férrico, probablemente por formación de una sal insoluble de hierro con los ácidos biliares, reduce marcadamente la absorción del colesterol intestinal. Todos estos agentes son importantes porque previenen la hipercolesterolemia y por su hipotético papel en las enfermedades vasculares (3,4).

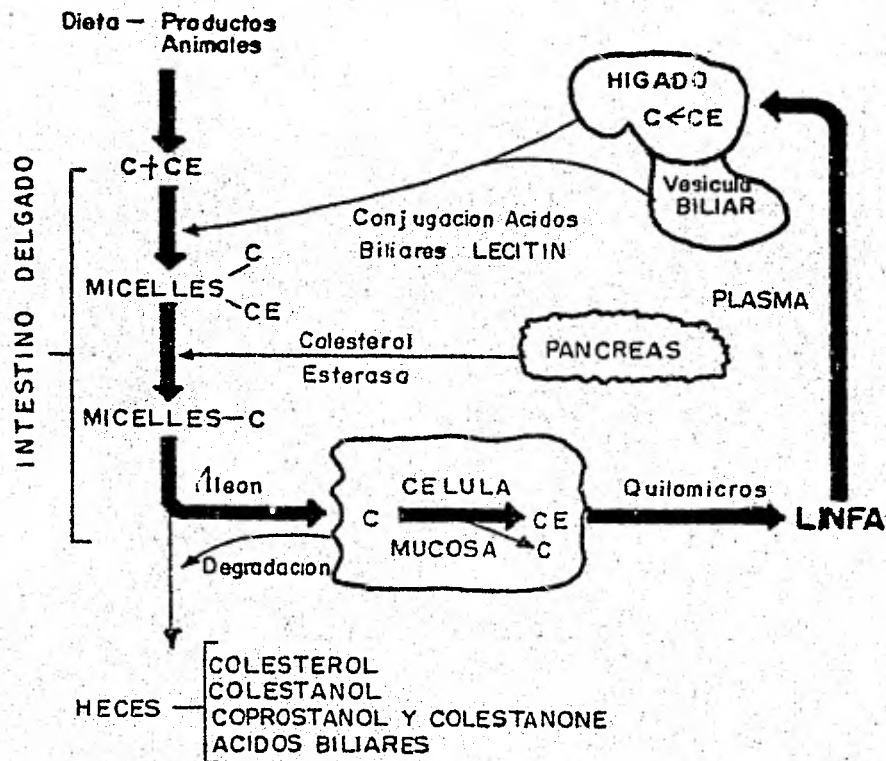
Colesterol de los fluidos del cuerpo.- Gran parte del colesterol se encuentra en los micrones del quilo, tanto en la linfa como del plasma sanguíneo. Puesto que el estado disperso de estas gotitas de grasa se debe principalmente a su contenido en fosfolípidos, no es sorprendente que la relación de fosfolípidos/colesterol, en la sangre permanezca totalmente constante.

Aproximadamente dos tercios del colesterol del plasma se encuentra esterificado con los ácidos grasos. El hígado es el encargado de mantener esta relación y, si éste enferma, este valor disminuye por un descenso de la concentración de los ésteres de colesterol. El hígado es, a la vez, la fuente-

principal de síntesis y el agente más importante de distribución del colesterol del plasma, una parte del cual se elimina de la sangre y aparece en la bilis.

Las concentraciones normalmente elevadas de colesterol en la bilis humana tienen importancia clínica. Aunque poco soluble en agua, el colesterol se disuelve fácilmente en soluciones acuosas de sales biliares, probablemente debido a la formación de ácidos coléicos, compuestos específicos de los ácidos biliares y el esterol (Fig. 7).

DIGESTION Y ABSORCION DE COLESTEROL



Digestion y absorcion de Colesterol

C- Colesterol

CE- Ester Colesterilo

Celulas mucosas degeneradas constantemente son liberadas en el interior del intestino. Esto es conocido como degradacion

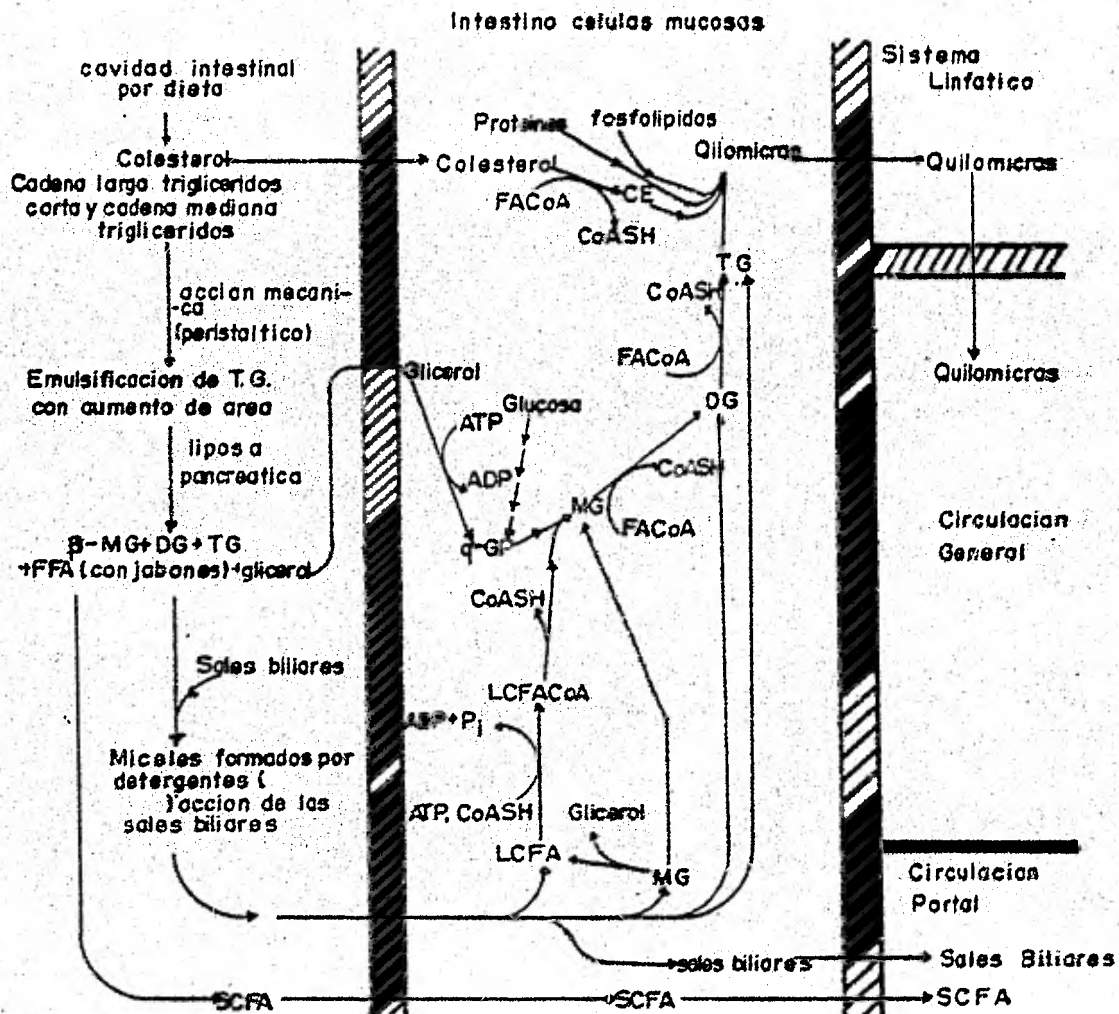
FIG. 7

DIGESTION DEL COLESTEROL

Mucho del colesterol contenido en la dieta está presente como esteroi libre. Un poco del colesterol esterificado es hidrolizado en el conducto intestinal por una enzima secretada en el jugo pancreático, la colesterol esterasa. Todo el colesterol dietético es incorporado a las micelas que se integran por constituyentes de la bilis. Estas micelas contienen ácidos biliares conjugados y fosfolípidos, además de colesterol. La emulsificación es necesaria porque el colesterol es poco soluble en el quimo, el medio acuoso que está presente en la cavidad intestinal. Debe ser conducido en un estado físico adecuado para su asimilación por la mucosa intestinal. La hidrólisis del éster colestérico dietético por la colesterol esterasa ocurre dentro de las micelas. El colesterol es absorbido con las micelas por difusión dentro de la mucosa celular, donde mucho de él es posteriormente reconvertido en éster colestérico. La absorción de colesterol ocurre en su mayor par-

te en el íleon.

Los ésteres de colessterilo, que son sintetizados en las mucosas celulares, son incorporados en grandes partículas-lípido-proteína, simultáneamente con un poco de colesterol no esterificado, que son liberadas dentro de la linfa. Estas partículas se llaman quilomicrones y transportan por el plasma, - por los vasos linfáticos y por el conducto torácico, colesterol y otros lípidos dietéticos. Con el tiempo, el colesterol es depositado en los tejidos, en su mayor parte en el hígado - (Fig. 8).



MG monoglicérido

DG diglicérido

TG triglicérido

FFA ácido graso libre

LCFA ácido graso de cadena larga (14 carbonos o más)

SCFA ácido graso de cadena corta (10 carbonos o menos)

α-GP α-glicerofosfato

CE éster de coolesterol

FACoA acetil-CoA graso

nota: Los ácidos grasos de cadena mediana son probablemente absorbidos poco gradualmente por ambas rutas.

FIG. 8

TRANSPORTE DEL COLESTEROL

El colesterol de la dieta es absorbido en el intestino y, junto con los otros lípidos, incorporado en los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD o pre- β -lipoproteínas); un 80-90% del colesterol absorbido es esterificado en la linfa con ácidos grasos de cadena larga. La esterificación puede ocurrir en la mucosa intestinal. Los esteroles vegetales (fitosteroles) son mal absorbidos.

En el hombre, la concentración de colesterol plasmática total está cerca de los 150-250 mg/100 ml y se eleva con la edad, aunque hay amplias variaciones entre los individuos. La mayor parte se encuentra en la forma esterificada. El colesterol es transportado en el plasma, como lipoproteínas, encontrándose la proporción más alta de colesterol en las lipoproteínas de baja intensidad (LBD o β -lipoproteínas) 43%-58%, cuya densidad es 1.019 - 1.063. Sin embargo, en condiciones -

donde las LMBD son cuantitativamente predominantes, una proporción elevada del colesterol plasmático reside en esta fracción 23%, y en las lipoproteínas de alta densidad (LAD o α -lipoproteínas) 35% - 41% (Ver cuadro A).

El colesterol de la dieta toma varios días para alcanzar el equilibrio con el colesterol plasmático y varias semanas para estarlo con el colesterol de los tejidos. La tasa de recambio del colesterol en el hígado es relativamente rápida, comparada con la vida media del colesterol corporal total que es de varias semanas (2). El colesterol libre en el plasma y en el hígado se equilibra en cosa de horas.

El equilibrio del éster de colesterilo con el colesterol libre en el plasma toma varios días en el hombre. En general, el colesterol libre se intercambia fácilmente entre los tejidos y las lipoproteínas, mientras que el éster de colesterilo no lo hace libremente. Algo del éster de colesterilo del plasma se puede formar en la LAD, como resultado de la reacción de transesterificación, en el plasma, entre el colesterol y el ácido graso en posición 2 de la fosfatidilcolina, catalizada por la lecitina: colesterol aciltransferasa (LCAT). Se ha descrito una deficiencia familiar de esta enzima y en los sujetos afectados, la concentración de ésteres de colesterilo y lisolecitina es baja, en tanto que la concentración de colesterol y lecitina está elevada (2). El plasma tiende a ser turbio y también se encuentran anomalías en las lipoproteínas. Una fracción de LAD contiene estructuras discoides

COMPOSICION DE LAS LIPOPROTEINAS DEL PLASMA HUMANO (DE H.A. HARPER ET AL., 1977)

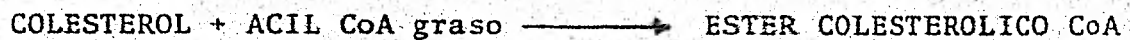
FRACCION	ORIGEN	DIAMETRO (nm)	DENSIDAD	S	COMPOSICION						
					PROTEINA (%)	TOTAL DE LIPIDOS	PORCENTAJE DE LIPIDOS TOTALES				
							Triacilglicérols.	Fosfolípidos.	Esteres de coles-terilo.	Coles-terol (libre)	Acidos grasos libres
Quilomicrones	Intestino	100-1000	96	400	1	99	88	8	3	1	...
Lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD)	Hígado e intestino	38 - 80	0.96-1.006	20-400	7	93	56	20	15	8	1
Lipoproteínas de baja densidad LBD1 o LDI	Quilomicrones LMBD	25.30	1.006-1.019	12 - 20	11	89	29	26	34	9	1
LBD 2		20-25	1.019-1.063	2-12	21	79	13	28	48	10	1
Lipoproteínas de alta densidad LAD1*	Hígado Intestino (?)	20	1.063	0-2							
LAD 2		10-20	1.063-1.125		33	67	16	43	31	10	...
LAD 3		7.5-10	1.210		57	43	13	46	29	6	6
Albúmina AGL	Tejido adiposo		1.2810		99	1	0	0	0	0	100

LDI, Lipoproteína de densidad intermedia; AGL, Acidos grasos libres
 * Esta fracción es cuantitativamente insignificante.

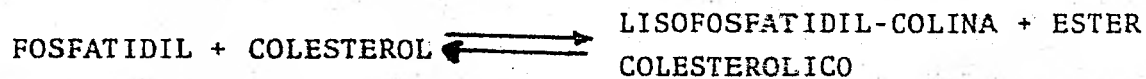
en pilas y monedas o rouleux y las LBD contienen una partícula más grande que tiene una composición de lípidos un tanto semejante a la correspondiente a las LMBD. También se encuentra, como una subfracción anormal de las LBD, la lipoproteína X, -- que aparece en pacientes con colestasis. Las LMBD también son anormales y emigran como β -lipoproteínas en la electroforesis. Los pacientes con enfermedad parenquimatosa del hígado muestran también una disminución en la actividad de la lecitín: - colesterol aciltransferasa y anomalías en los lípidos y lipoproteínas del suero. Parecería que la lecitín: colesterol - aciltransferasa fuera necesaria para el metabolismo normal de las lipoproteínas del plasma.

SINTESIS DE ESTERES DEL COLESTEROL

La mayor parte del colesterol de los tejidos de organismos superiores se encuentra esterificada con ácidos grasos de cadena larga a través de su grupo 3-hidróxilo. El hígado contiene una enzima que forma ésteres colesterólicos según la siguiente reacción.



Otros mecanismos de formación de ésteres del colesterol estriban en una trasesterificación entre la fosfatidilcolina y el colesterol.



TRASTORNOS DEL METABOLISMO DEL COLESTEROL

El transcurso normal del metabolismo de los lípidos da lugar a una síntesis y acumulación simultáneas, movilización y degradación de los lípidos del cuerpo, es decir, a un estado estacionario biológico y dinámico. En los adultos normales la cantidad de lípidos del cuerpo puede permanecer prácticamente constante durante lapsos largos. Las perturbaciones en el metabolismo provienen de una descompensación entre los procesos de síntesis y deposición de un lípido y aquellos que conducen a su movilización de los depósitos o degradación en los lugares de deposición.

Muchas investigaciones han demostrado una correlación entre los niveles elevados de los lípidos del suero y la incidencia de enfermedades de las coronarias del corazón y de aterosclerosis. De los lípidos séricos el colesterol es uno de los que más a menudo ha sido señalado como el principal

agente comprometido en esta relación.

La acumulación patológica de placas que contienen colesterol dentro de la aorta es la lesión característica denominada "ateromatosis" y se ve en la esclerosis arterial y arteriolar. Si bien existe controversia sobre el mecanismo de acumulación, se han indicado algunos cambios concomitantes en la composición de la sangre. Aunque no es muy elevada la concentración de colesterol en el plasma, sí lo es la relación de colesterol a fosfolípido y revelan un aumento en la fracción lipoproteica S de 12 a 20 (unidades Svedberg de flotación), que es rica en colesterol.

El término general que indica endurecimiento de las arterias, es arteriosclerosis. La forma más prevalente de arteriosclerosis está caracterizada por la acumulación de lípidos, particularmente éster colesterólico en la íntima arterial. Esta forma de arteriosclerosis es llamada aterosclerosis y los depósitos de lípidos por debajo de la íntima se conocen como placas ateromatosas. Como dichas placas contienen mucho colesterol, se llaman a veces simplemente depósitos de colesterol. Esta enfermedad se considera actualmente causa principal de muerte en E.U., norte de Europa y otras regiones.

Los depósitos de lípidos ocurren dentro de la célula que, según se cree, deriva del músculo liso arterial. Los ésteres colesterólicos presentes en estas células contienen una proporción alta de oleato de colesterilo. En esta etapa

los depósitos de lípidos son reversibles y no provocan daño -- permanente de las paredes vasculares. Esta lesión es llamada Fatty streak o línea grasa. Subsecuentemente, los lípidos empiezan a acumularse extracelularmente en la íntima arterial. Los mecanismos patológicos involucrados en convertir la lesión que contiene, predominantemente, acumulación de lípidos intracelulares a una que contiene depósito de lípidos extracelulares, no se conoce hasta el momento (12,20).

No obstante que el lípido predominante es el éster-colesterílico, la composición de los ésteres colesterílicos extracelulares se asemeja a la lipoproteína del plasma, particularmente LBD. Más linoleato de colesteroilo que oleato está -- presente en estos depósitos de lípidos extracelulares. Cuando la lesión progresa a esta etapa, ya no es reversible (Fig. 9).

La muerte por aterosclerosis coronaria es mucho más frecuente entre los varones que entre las mujeres, sobre todo antes de los 50 años. Por lo tanto, se piensa que la hormona masculina puede acelerar el desarrollo de aterosclerosis. De hecho, parece que la administración de estrógenos a enfermos de trombosis coronaria disminuye el número de recaídas. Además, se han logrado algunas mejorías administrando estrógenos a pollos cuyas coronarias presentaban depósitos ateromatosos.

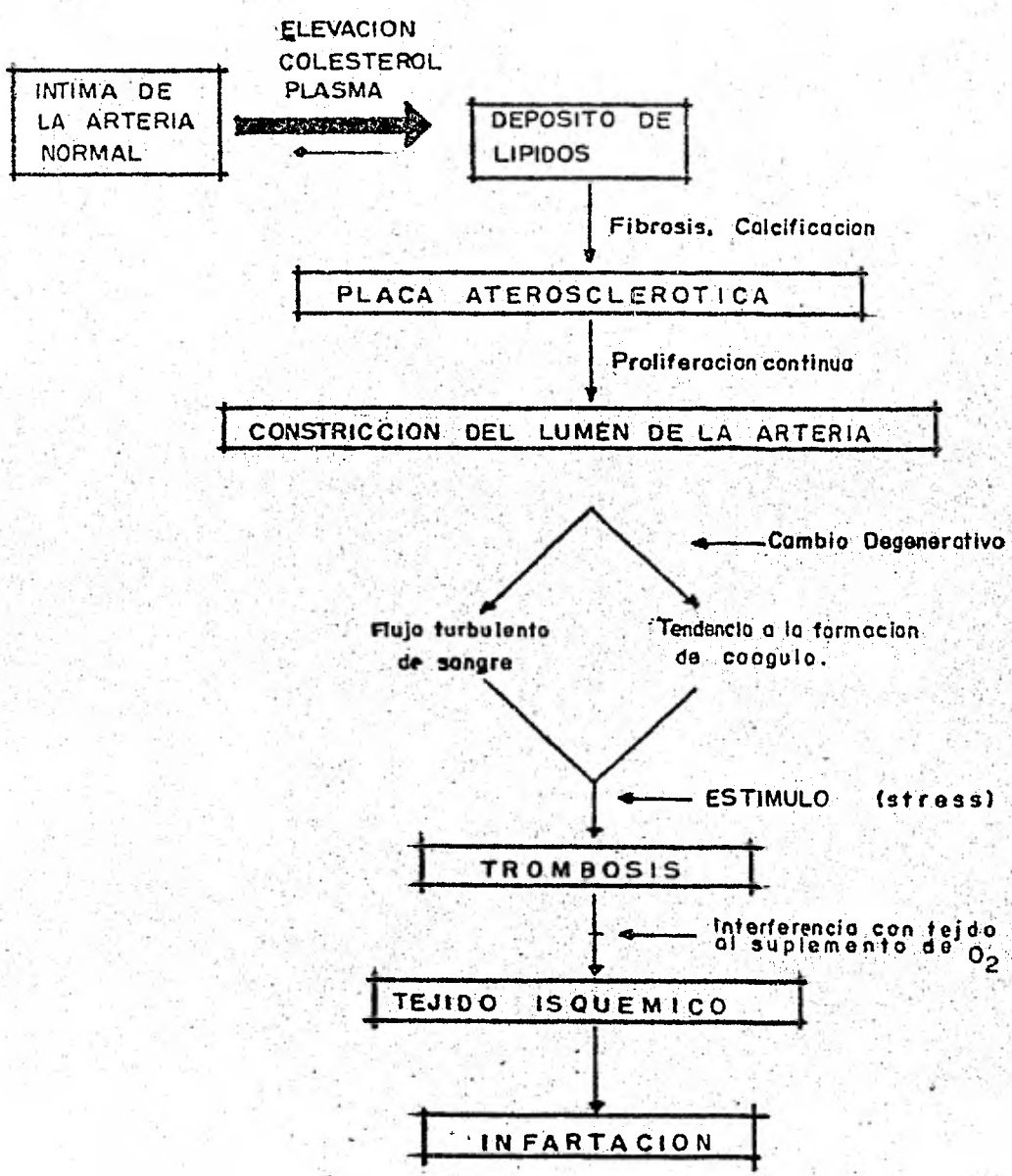
En algunas familias hay tendencia hereditaria clara a la aterosclerosis, generalizada o coronaria. A veces hay -- también hipercolesterolemia hereditaria, pero en otras el co--

lesterol sanguíneo es completamente normal. En este segundo grupo el colesterol suele formar parte de grandes lipoproteínas beta, y no de las pequeñas como es habitual. Estas grandes lipoproteínas tienen una elevada relación de colesterol/fosfolípidos, factor que podría significar menor estabilidad en suspensión y, por consiguiente, mayor depósito de lípidos en las paredes arteriales. A menudo la tendencia hereditaria a la aterosclerosis depende de genes dominantes, que cuando esta característica aparece en una familia, su frecuencia en la descendencia suele ser alta.

Es frecuente la aparición de aterosclerosis temprana y grave de diabetes o hipotiroidismo. En ambos procesos se encuentran cifras muy altas de colesterol sanguíneo, lo cual parece es la causa de aquélla.

También la hipertensión se asocia con aterosclerosis en el ser humano y en los animales de experimentación; la aterosclerosis coronaria es dos veces más frecuente en hipertensos que en sujetos normales. No se conoce el mecanismo del fenómeno, pero podría ser la aparición de placas de colesterol en zonas dañadas por presión excesiva.

Una alimentación rica en grasa, en especial si contiene colesterol y grasa saturada, aumenta considerablemente los peligros de aterosclerosis (13, 23).



Mecanismo productor de aterosclerosis e. infarto

FIG. 9

HIPERCOLESTEROLEMIA

El colesterol es absorbido de la dieta, la mayoría de nosotros tenemos una ingestión de colesterol dietético de 500 a 1000 mg/día y absorbemos 200 a 500 mg/día. Cualquier colesterol de la dieta que esté presente en forma esterificada es hidrolizado a alcohol libre por la acción de colesterol esterasa, una enzima digestiva pancreática. La hidrólisis ocurre dentro o sobre la superficie de las micelas que están formadas por la mezcla de ácidos biliares conjugados, lecitina y el colesterol contenido en la bilis. El colesterol es transferido de la micela o de las células de la mucosa intestinal por difusión pasiva; la mayor parte de la absorción ocurre en el íleon. Una vez dentro de la célula mucosa, la mayor parte del colesterol es reesterificado y liberado hacia la linfa como parte de los quilomicrones. Estas lipoproteínas entran a la corriente sanguínea y los ésteres colesterílicos son reducidos o recogidos por el hígado.

El proceso absorptivo puede continuar por 8-10 horas después de la ingestión de alimentos grasos. Por consiguiente, una persona tiene normalmente hipercolesterolemia transitoria después de comer una comida que contenga grasas y ésta es una respuesta enteramente fisiológica. La hipercolesterolemia es anormal solamente si persiste en el estado de ayuno. Es por esta razón que todas las evaluaciones de la concentración de colesterol del plasma en el hombre debe hacerse después de un

ayuno nocturno de 12 a 14 horas de duración.

Es perfectamente razonable para un paciente tener colesterol en su plasma sanguíneo y en todos sus tejidos, a pesar de haber estado con una dieta libre de colesterol por un tiempo prolongado. La dieta no es la única fuente de colesterol para el hombre, puesto que la mayor parte del colesterol es originado por la biosíntesis (14).

La hipercolesterolemia familiar es un trastorno transmitido genéticamente. El defecto genético en este caso es el fallo de uno de los mecanismos represores que funcionan en el punto del control retroactivo en la biosíntesis del colesterol (3).

Una enfermedad menos frecuente en la que se encuentran depósitos ricos en colesterol es la Xantomatosis. Asociada con una lipemia y una fuerte hipercolesterolemia, aparecen con esta enfermedad muchos tumores grasos y benignos de la piel, alrededor de los tendones y huesos. Se ha observado que los individuos que la padecen pueden mejorar excluyendo de la dieta todos los lípidos animales y, por lo tanto, el colesterol.

Una alteración menos frecuente es el síndrome de Schüller-Christian, caracterizado por la formación de depósitos xantomatosos en los huesos planos del cráneo, en el hígado y en el bazo, asociados con la diabetes.

En ciertas condiciones clínicas se han visto cambios en el nivel de colesterol en sangre sin una acumulación patente. En el hipotiroidismo y en el síndrome nefrótico aparece la lipemia y, especialmente, la hipercolesterolemia. En ningún caso se han valorado los cambios químicos que ocurren. También se puede producir una hipercolesterolemia por un aumento de esteroides de la corteza suprarenal en la sangre, así como de algunas preparaciones de la hipófisis (24).

Secreción de colesterol y formación de cálculos biliares. En el proceso de secretar sales biliares se elimina aproximadamente la décima parte del colesterol hacia la bilis; se cree que constituye simplemente un producto secundario de la formación y secreción de sales biliares.

El colesterol es casi insoluble en agua pura, pero las sales biliares, los ácidos grasos y la lecitina de la bilis poseen acción hidrotrofica que solubiliza al colesterol. Cuando la bilis se encuentra en la vesícula biliar todas las sustancias hidrotropicas se concentran junto con el colesterol en solución. En condiciones anormales, el colesterol puede precipitarse y originar cálculos biliares. Los diversos procesos que pueden causar precipitación del colesterol son:

- a) Absorción de un exceso de agua de la bilis.
- b) Absorción de un exceso de sales biliares, ácidos grasos y lecitina de la bilis.

- c) Secreción de colesterol hacia la bilis.
- d) Inflamación del epitelio de la vesícula biliar.

La cantidad de colesterol de la bilis depende principalmente de la cantidad de grasa que el individuo ha comido, pues las células hepáticas sintetizan colesterol en proporciones aproximadas a la cantidad de grasa metabolizada en el cuerpo. Por tal motivo, la persona que toma una dieta rica en grasa durante muchos años, tiene gran tendencia a sufrir cálculos biliares. La inflamación del epitelio de la vesícula biliar - muchas veces resulta de una infección crónica ligera; ello modifica las características de absorción de la mucosa vesicular permitiendo a veces una absorción excesiva de agua o sales biliares u otras sustancias necesarias para mantener el colesterol en solución. En consecuencia, éste comienza a precipitar, formando generalmente muchos pequeños cristales de colesterol en la superficie de la mucosa inflamada. Estos cristales, a su vez, actúan como núcleos de precipitaciones ulteriores de colesterol y van haciéndose cada vez más voluminosos. A veces se produce gran número de cálculos como granos de arena, pero es más frecuente que se reúnan para formar unos cálculos biliares tan voluminosos que uno solo llena la vesícula biliar (16).

FUNCIONES DE ALGUNOS MEDICAMENTOS QUE DEPRIMEN LOS NIVELES DE COLESTEROL

Clofibrate.- Aunque el mecanismo exacto de inhibición no se conoce, el clofibrate es un conocido inhibidor de la síntesis de colesterol hepático. También abate las LMBD, presumiblemente por inhibición de la síntesis de triglicéridos y lipoproteínas. Estos compuestos son utilizados para el tratamiento de las hiperlipoproteinemias del tipo III, IV, V, pero no poseen ningún valor en el tratamiento de las hiperlipoproteinemias de los tipos I, II.

Hiperlipoproteinemias.- Tipo I: Caracterizado por una eliminación muy lenta de quilomicrones de la circulación, produciendo elevación anormal de los niveles de quilomicrones.

Tipo II: Caracterizado por hiperbetalipoproteinemia, que está asociado con aumento del colesterol plasmático.

Tipo III: Caracterizado por un aumento tanto de --

pre- β -lipoproteínas, causando hipercolesterolemia e hipertriacilglicerolemia.

Tipo IV: Caracterizado por hiperprebetalipoproteiemia asociado con altos niveles de triacilgliceroles producido endógenamente. Los niveles de colesterol aumentan en proporción de la hipertriacilglicerolemia y frecuentemente se encuentra intolerancia a la glucosa.

Tipo V: El patrón de lipoproteína es complejo ya que tanto los quilomicrones como las pre- β -lipoproteínas están elevadas, produciendo tanto triacilglicerolemia como colesterolemia.

Los efectos secundarios incluyen aumento en los niveles de la creatinafosfoquinasa (C.P.K.), transitoria elevación de transaminasa glutámica oxalacética (TGO) y transaminasa glutámica pirúvica (TGP), leucopenia, etc.

D-Tiroxine: Baja la concentración del colesterol por aceleración del catabolismo del colesterol y lipoproteína de baja densidad (LBD).

Un efecto secundario es acrecentada sensibilidad a los anticoagulantes como la cumarina. Estas drogas no pueden ser usadas en individuos con enfermedades del corazón o tolerancia anormal a la glucosa, posiblemente en aquellos que poseen un defecto en la velocidad del metabolismo.

Colestiromine.- Una resina de intercambio aniónico proviene la reabsorción de ácidos biliares e incrementa su pérdida por las heces. La resina Cl^- cambia el ión Cl^- por (ácido biliar)⁺ y forma un complejo resina ácido biliar el cual -- es eliminado en las heces. Se encuentra interrumpida la circulación enterohepática y se produce un incremento en el catabolismo del colesterol para reemplazar la pérdida de ácidos biliares. Estos compuestos son muy provechosos para el tratamiento de la hiperlipoproteinemia.

Los efectos secundarios incluyen náuseas, constipación, posiblemente hipercolesterolemia, acidosis en niños, interferencia con la absorción de vitaminas solubles (Vit. A, D, E, y K) etc.

Neomicin.- Bloquea la absorción intestinal de colesterol.

MATERIAL Y METODOS

Material biológico.- El material biológico utilizado fue suero de 201 personas, obtenido en dos etapas.

Etapas I.- Suero de 101 personas, de una población heterogénea del Hospital General del C.M. La Raza (Pacientes), agrupados en tres grupos, a) valores de referencia, b) valores patológicos bajos, c) valores patológicos altos.

Etapas II.- Suero de 100 personas clínicamente sanas, cuyas edades fluctuaron entre 20 y 40 años, para obtener valores de referencia.

Toma de la muestra.- Las muestras de sangre fueron obtenidas en condiciones basales (ayuno de no menos de 12 horas). Evitándose cualquier actividad o factor que influyera en el metabolismo de los lípidos.

METODOS

DETERMINACION DE COLESTEROL POR EL METODO COLORIMETRICO (técnica de Babson, Shapiro y Phillips)

Fundamento.- El colesterol se extrae del suero con alcohol-éter, el cual se mezcla con gel hidróxido de aluminio (Seramox), absorbente inerte que elimina la interferencia por bilirrubina. El extracto centrifugado se trata con cloruro férrico y ácido sulfúrico (utilizado como oxidante, forma una molécula colorida), lo cual produce un color que es lineal por lo menos hasta 500 mg% de colesterol.

MATERIAL

- a) Fotocolorímetro (Leitz)
- b) Pipetas de 5 a 10 ml.
- c) Micropipetas de 100 a 250 lambdas.
- d) Tubos de 13 X 100 y de 18 X 150 mmn (milímetros).
- e) Baño de agua fría.

Material biológico: suero sanguíneo.

REACTIVOS

- a) Alcohol-éter
- b) Acido sulfúrico concentrado.
- c) Cloruro férrico.
- d) Acetato de etilo.
- e) Estándar de colesterol (Serachol)
disolver 60 mg en 100 ml de acetato de etilo/etanol (1:1).
- f) Estándar de trabajo
10 ml de estándar de colesterol,
20 ml de reactivo de extracción
2 ml de agua destilada. Equivale a
300 mgs % de colesterol.
- g) Reactivo de color
Cloruro férrico ($\text{Fe Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 100 mg.
Acetato de etilo Q.P. 100 ml, protegerlo de la luz.

PROCEDIMIENTO

- a) Marcar los tubos de 13 X 100 patrón, blanco de reactivos y suero problema.
- b) Colocar 0.1 ml (100 lambdos), 0.1 ml. de Serachol para el patrón y 0.1 ml. de agua destilada para el blanco.
- c) Añadir 1.5 ml. de reactivo de extracción en cada tubo.
- d) Añadir 60 mg de gel de hidróxido de aluminio.
- e) Agitar muy bien y dejar reposar 5 min.
- f) Centrifugar a 1500 rpm durante 3 a 5 min.
- g) En tubos de 18 X 150 mms medir 0.025 ml del extracto y 1.5 ml de reactivo de color, mezclar.
- h) Añadir a cada tubo 1 ml de ácido sulfúrico concentrado estratificado, agitar el tubo para mezclar, dejar 20 min. en baño de agua fría.
- i) Leer la absorbancia del patrón y del problema en una longitud de onda de 550 nm. contra blanco de reactivos. (25, 26).

CALCULOS

$$\frac{\text{Absorbancia problema X conc. del patrón}}{\text{Absorbancia del patrón}} = \text{mg\% de colesterol total}$$

DETERMINACION DE COLESTEROL POR EL METODO ENZIMATICO

Fundamento.- El colesterol libre y esterificado es liberado de las lipoproteínas por detergentes. La colesterol-esterasa hidroliza los ésteres, que junto con el colesterol libre nos da el colesterol total. A continuación se lleva a cabo una oxidación enzimática por la colesterol oxidasa, produciendo H_2O_2 que transforma yoduro en yodo, el cual se determina colorimétricamente.

MATERIALES

- a) Autoanalizador Bicromático ABBOTT-100
- b) Pipetas de 5 y 10 ml.
- c) Cubeta dilutora.

REACTIVOS

(MERCK)

- a) Fosfato potásico 0.2 mol.
- b) Yoduro potásico 0.12 mol.
- c) Azida de sodio 0.15 mol.
- d) Eter mono p-(1, 1, 3, 3-tetrametilbutil)-fenílico del polietilen glicol - 2 g/l.

e) Cloruro de alquilbencildimetilamonio-
0.1 g/L

f) Solución de colesterol oxidasa (fras-
co 3).

g) Solución de colesterol-esterasa (fras-
co 2).

Bien cerrados y conservados a temperatura
de + 2°C a + 6°C.

PREPARACION

Reactivo de coloración: Fosfato potásico 0.2 mol/l.,
Ph 6.2, yoduro potásico 0.12 mol/l., azida de sodio 0.15 mol/l.,
éter mono p-(1,1,3,3-tetrametilbutilfenílico) del polietilén -
glicol 2 g/l., cloruro de alquilbencil-dimetil-amonio 0.1 g/l.,
molibdato amónico 10 mol/l. (Frasco 1).

Solución en reacción: añadir con pipeta al conteni-
do del frasco 1, 1 ml. del frasco 2 y 1 ml. del frasco 3, mez-
clar bien. Estable 4 semanas en refrigeración; guardar a cu-
bierto de la luz.

PROCEDIMIENTO

Para esta etapa del trabajo se utilizó un autoanali-
zador bicromático marca ABBOTT-100, el cual ya se encontraba -
funcionando en el Laboratorio del Hospital General del C. M. -
La Raza, llevando a cabo determinaciones de proteínas totales,
transaminasa oxalacética, transaminasa pirúvica.

Tomando en cuenta el funcionamiento del autoanalizador y conociendo las características de la reacción enzimática para la determinación del colesterol, se realizaron pruebas para encontrar los parámetros adecuados para el autoanalizador y poder llevar a cabo la determinación de colesterol. Los parámetros encontrados son los siguientes:

INCUBADOR	37°C
SELECTOR DE MODO	PUNTO FINAL
DIRECCION DE LA REACCION	A LA DERECHA
TIEMPO DE ANALISIS	15 min.
REVOLUCIONES DEL CARRUSEL	2
FILTRO	340-380
PLATO DILUTOR	1:201

El factor de calibración se comprueba diariamente - calibrando con precilip, cuya confiabilidad fue probada contra un patrón primario.

RESULTADOS

TABLA 1

Se reportan los valores obtenidos de colesterol en miligramos/100 ml por los dos diferentes métodos.

CASOS	METODO COLORI METRICO	METODO ENZIMA TICO	CASOS	METODO COLORI METRICO	METODO ENZIMA TICO
1	202	195	20	137	180
2	220	229	21	137	113
3	165	175	22	332	385
4	156	125	23	229	195
5	183	157	24	119	140
6	220	191	25	137	140
7	229	225	26	128	178
8	137	135	27	156	197
9	82	78	28	211	210
10	220	223	29	229	259
11	128	140	30	165	132
12	165	163	31	220	243
13	192	140	32	165	156
14	73	77	33	128	134
15	119	112	34	156	132
16	128	122	35	175	184
17	322	328	36	183	162
18	147	131	37	119	106
19	156	199	38	119	121

TABLA 1 (Continúa)

CASOS	METODO COLORI METRICO	METODO ENZIMA TICO	CASOS	METODO COLORI METRICO	METODO ENZIMA TICO
39	220	209	62	62	57
40	192	152	63	172	160
41	110	122	64	271	272
42	175	151	65	271	268
43	101	80	66	104	81
44	128	170	67	184	150
45	201	180	68	196	182
46	220	194	69	137	158
47	156	243	70	85	94
48	192	177	71	104	94
49	192	241	72	137	155
50	198	133	73	184	173
51	229	255	74	245	211
52	306	310	75	185	188
53	93	73	76	271	280
54	173	151	77	104	148
55	234	211	78	196	190
56	150	102	79	258	251
57	185	141	80	126	155
58	220	295	81	92	89
59	172	256	82	196	251
60	137	141	83	149	112
61	185	231	84	165	125

TABLA 1 (Continúa)

CASOS	METODO COLORI METRICO	METODO ENZIMA TICO	CASOS	METODO COLORI METRICO	METODO ENZIMA TICO
85	377	312	94	165	156
86	202	154	95	73	81
87	238	184	96	340	318
88	128	107	97	184	207
89	165	191	98	156	120
90	82	85	99	156	116
91	101	88	100	165	151
92	193	177	101	165	125
93	128	119			

La tabla muestra los valores obtenidos en la primera etapa: determinación de colesterol por los dos métodos.

Resultados de los cálculos estadísticos efectuados para los dos métodos:

Método Colorimétrico $X = 174.26$ D.S. = 61.6

Método Enzimático $X = 170.9$ D.S. = 65

Donde X es la media $X = \frac{\sum x}{n}$

$$D.S. \text{ (Desviación estándar)} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$r = 0.92$ donde r (coeficiente de correlación)

$r^2 =$ confiabilidad 85% estos datos se expresan en -
la gráfica # 2.

TABLA II

Representa la agrupación de los datos de acuerdo a su concen-
tración, encontrándose los siguientes 16 grupos:

mg %	M. Enzimático	M. Colorimétrico
50-60	1	0
60-70	0	1
70-80	4	2
80-90	6	4
90-110	8	6
110-120	6	8
120-130	7	9
130-150	14	10
150-170	15	14
170-190	13	14
190-210	10	12
220-240	6	12
240-250	7	4
250-260	4	3
270-330	1	2
330-500	2	3

Nota: Estos datos fundamentan la gráfica # 1.

La precisión fue evaluada por su coeficiente de variación (C.V.), mediante la determinación de estándares de calibración. Se utilizaron Precilip y Validate y los resultados obtenidos fueron:

Método colorimétrico	C.V. = 8%
Método enzimático	C.V. = 2.9%

Nota: Los cálculos estadísticos se realizaron consultando "Introducción a la Bioestadística" (Ver bibliografía).

TABLA III

Valores obtenidos de colesterol en miligramos/100 ml de pacientes femeninos cuyas edades son entre 20-40 años.

CASOS	EDAD	METODO ENZIMATICO AUTOMATIZADO
1	34	151
2	25	134
3	23	216
4	21	179
5	23	190
6	20	173
7	28	171
8	29	179
9	32	177
10	29	205
11	40	114
12	27	162
13	24	166
14	21	112
15	22	180
16	39	162
17	20	119
18	26	154
19	23	157
20	28	148
21	34	203

TABLA III

Continúa

CASOS	EDAD	METODO ENZIMATICO AUTOMATIZADO
22	39	183
23	23	162
24	25	171
25	34	168
26	24	201
27	39	163
28	22	202
29	36	114
30	25	111
31	20	126
32	29	133
33	22	146
34	23	159
35	35	179
36	30	175
37	33	163
38	24	200
39	27	173
40	26	153
41	36	154
42	20	162
43	26	204

TABLA YIII

Continúa

CASOS	EDAD	METODO ENZIMATICO AUTOMATIZADO
44	31	172
45	23	176
46	40	211
47	25	165
48	30	178
49	35	179
50	37	187
51	39	163
52	25	130
53	23	172
54	31	230
55	32	176
56	34	229

RESULTADOS ESTADISTICOS:

$$\bar{X} = 171.3$$

$$D.S. = 28.27$$

$$C.V. = 16.5$$

Valor de referencia obtenido por el método enzimático automatizado en pacientes del sexo femenino 114.9 - 227.7 mg.

TABLA IV

Valores obtenidos de colesterol en miligramos/100 ml de pacientes masculinos cuyas edades son entre 20-40 años.

CASOS	EDAD	METODO ENZIMATICO AUTOMATIZADO
1	27	116
2	22	112
3	24	117
4	34	166
5	22	157
6	20	105
7	37	146
8	37	115
9	23	174
10	25	220
11	24	179
12	20	133
13	34	200
14	20	126
15	34	189
16	30	236
17	34	186
18	20	167
19	22	204
20	35	205
21	29	145

TABLA IV

Continúa

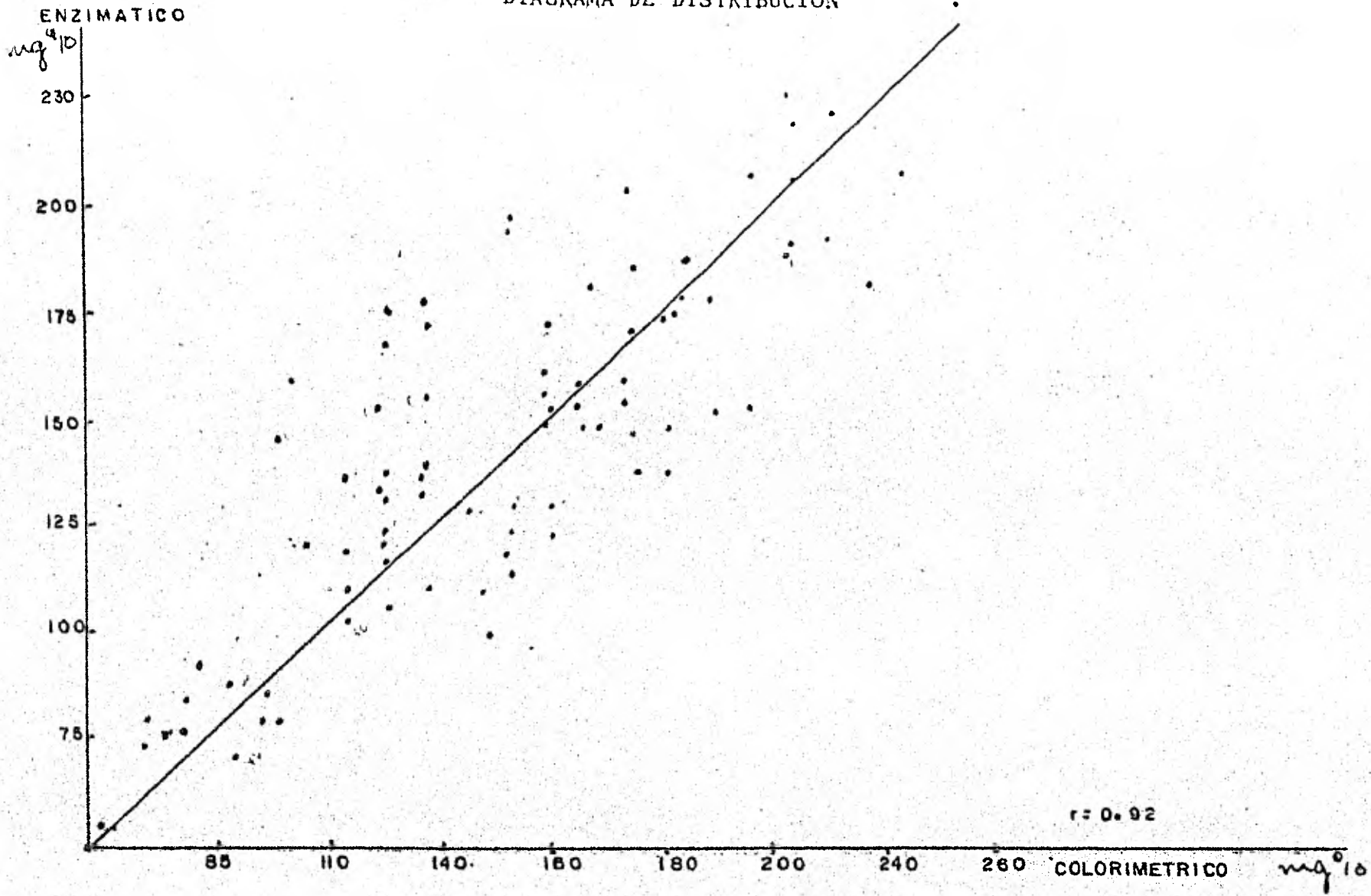
CASOS	EDAD	METODO ENZIMATICO AUTOMATIZADO
22	21	170
23	38	194
24	22	236
25	25	174
26	20	129
27	33	174
28	27	151
29	23	107
30	32	174
31	24	132
32	22	145
33	22	157
34	29	247
35	40	189
36	40	165
37	35	178
38	21	127
39	27	158
40	36	172
41	40	211
43	22	154
44	35	145

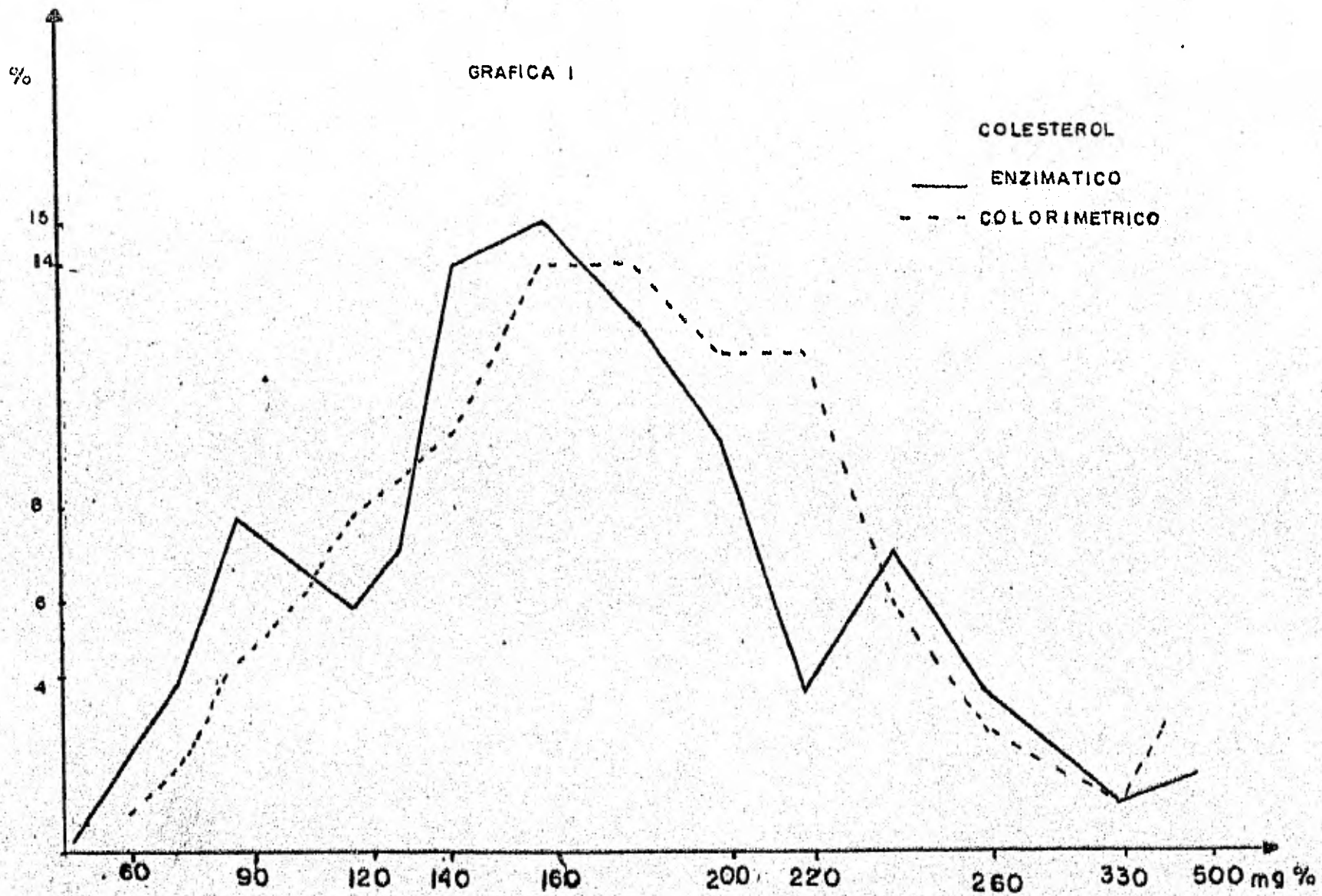
Resultados Estadísticos:

X = 168.95 D.S = 34.93 C.V = 20.67

Valor de referencia obtenido por el método enzimático automatizado en pacientes del sexo masculino 99.15 - 238.75 mg/100 ml.

DIAGRAMA DE DISTRIBUCION





D I S C U S I O N E S

La adaptación del método enzimático a la automatización (autoanalizador Bicromático ABBOTT-100), se realizó tratando de mantener los parámetros que requería la reacción enzimática y al mismo tiempo aprovechar las características del aparato empleado.

La temperatura óptima para llevar a cabo la reacción por el método enzimático manual es de 25-30 °C/20 min., para reducir el tiempo en la reacción la temperatura se elevó a 37°C, así el tiempo de la reacción se redujo a 15 min., donde 10 min. son empleados para que el autoanalizador realice la primera revolución del carrusel y 5 min. para la segunda revolución, terminada ésta se obtienen los valores de colesterol de las muestras analizadas en miligramos/100 ml.

Para determinar la dirección de la perilla de selector de modo sabemos que para realizar la determinación colorimétrica

métrica del yodo liberado de la reacción enzimática, la perilla debe ser colocada en la dirección de punto final.

La perilla que indica la dirección de la reacción debe ser colocada hacia donde indica "a la derecha".

En la reacción enzimática manual el filtro utilizado para llevar a cabo la lectura es a 365 nm., el aparato tiene varios filtros, se elige el filtro 340-380 nm porque en este rango está el utilizado en la reacción enzimática manual.

Se compararon los dos métodos para determinar la concentración de colesterol y así evaluar la exactitud del método enzimático adaptado a la automatización en relación al método colorimétrico empleado en el laboratorio de análisis clínicos.

La investigación se realizó en una población heterogénea de 101 casos. De acuerdo a los resultados estadísticos observamos:

a) La correlación entre los dos métodos obtenida fue de $r = 0.92$ y observando la gráfica (Diagrama de distribución) podemos decir que existe una correlación entre ambos métodos y ésta es lineal con una pendiente positiva.

b) Observando la tabla de resultados I, con el método enzimático automatizado se encontraron valores más bajos que en la determinación con el método colorimétrico, esto pue-

de deberse a una mayor sensibilidad por parte del método enzimático automatizado.

c) Se observó que el método enzimático presenta mayor especificidad debida a la falta de interferencia por hemólisis, ictericia y turbiedad, fue mayor la interferencia que se presentó en el método colorimétrico. Aunque en un caso -- con diagnóstico de cáncer de páncreas se observó inhibición total de la reacción enzimática por un metabolito o fármaco no determinado.

d) El método colorimétrico presenta una linealidad hasta de 500 mg % y el método enzimático de 400 mg%.

Se determinaron los valores de referencia para el método enzimático automatizado para el sexo femenino y para -- el sexo masculino.

La investigación se realizó en una población cuyas edades fluctuaron entre los 20 y 40 años. Se observó que existe poca diferencia entre los dos valores obtenidos.

CONCLUSIONES

I. El método enzimático automatizado, tiene mayor sensibilidad y detecta valores más bajos de colesterol en un número mayor de casos que el método colorimétrico. (ver gráfica 1)

II. La especificidad del método enzimático supera a la del método colorimétrico, aunque se observó en un caso diagnóstico de cáncer de páncreas un metabolito (desconocido) que interfirió con la determinación de colesterol por el método enzimático.

III. La adaptación del método enzimático a la automatización trae como ventaja una mayor rapidez en la determinación de colesterol en suero, ya que en 15 min. pueden efectuarse 31 determinaciones de colesterol en suero.

IV. La técnica enzimática automatizada también re--

quiere de una cantidad de muestra menor que en la técnica manual y los pasos para llevarla a cabo la determinación también se reducen.

V. Mediante el análisis estadístico observamos que no existen diferencias significativas entre los dos métodos. Se obtuvo una $r = 0.92$, lo que significa que hay una correlación grande entre ambos métodos.

VI. Se observó una mayor precisión para el método enzimático automatizado, los valores C.V. para el método colorimétrico fue de 3% y para el método enzimático de 2.9%

VII. Linearidad; la linearidad para el método colorimétrico fue hasta de $500 \text{ mg}/100 \text{ ml}$, y para el enzimático hasta de $400 \text{ mg}/100 \text{ ml}$.

VIII. Los valores de C.V. para los valores de referencia del sexo femenino es 16.5% y para el masculino de 20.67% .

IX. No se observó una gran diferencia entre los valores de referencia para ambos sexos de pacientes entre los 20 y 40 años.

X. El método enzimático automatizado presenta grandes ventajas con respecto a la técnica colorimétrica manual, como ya se vio anteriormente es más preciso, más rápido, tiene mayor sensibilidad, se requiere una muestra muy pequeña, por lo que podemos decir que es un método recomendable.

Las técnicas colorimétrica y enzimática que se utilizaron para llevar a cabo este trabajo se eligieron por tener experiencia en su realización, puesto que con ellas se realizaban las determinaciones de colesterol en suero en el laboratorio de análisis clínicos donde se desarrolló este trabajo.

- 6) BROWN, M.S., and GOLDSTEIN, J.L.
Receptormediated control of cholesterol metabolism, Science 191:150, 1976. A recent review of this new and exciting area.
- 7) GRANT, J.K.
Lipids: Steroid Metabolism, en M. Florkin y H.S. Mason, eds., Comparative -- Biochemistry, vol III A, Págs. 163-203 Academic Press, Inc., Nueva York, 1962
- 8) CONNOR, W.E., and LIN, D.S.
The intestinal absorption of dietary cholesterol by hypercholesterolemic -- (type II) and normocholesterolemic human, J. Clin. Invest. 53:1062, 1974. -- An important study in humans.
- 9) DEMPSEY, M.E.
Regulation of steroid biosynthesis, -- Ann, Rev. Biochem. 44:967, 1975
- 10) DAWSON, R.M.C.
The Metabolism of phospholipids, en -- M. Florkin y H.S. Mason, eds., Comparative Biochemistry, vol III A, Págs. -- 265-285, Academic Press, Inc., Nueva York, 1962.
- 11) MEAD, J.F.
Lipid Metabolism, Ann. Rev. Biochem., - 32, 241-268, 1963.
- 12) BHAGAVAN, N.V., PH.D.
Biochemistry a Comprehensive Review Ed. J.B. Lippicantt Company, Philadelphia 1974.
- 13) DR. GOTH, ANDRES
Farmacología Médica Cuarta edición. Ed. Interamericana, S.A México 1969.

- 14) GOLDSTEIN, J.L., HAZZARD, W.R., SHROTT, H.G., BIERMAN, E.
Hyperlipidemia in coronary hear disease I. Lipid Levels in 500 survivors of myocardial infarction, J. Clin. Invest. 52:1533, 1973.
- 15) GLDFINE, H.
Lipid chemistry and metabolism, Ann., Rev. Biochem., 37:303-330, 1968.
- 16) DR. GUYTON, ARTHUR C.
Fisiología y Fisiopatología Básicas
Ed. Interamericana, México 1972
- 17) SANFORD, TODO
Clinical diagnosis by Laboratory Methods Davison and Henrry, Sanders C, -
15 thied Philadelphia, 864-848, 1974.
- 18) HOUSSAY, F.A.
Fisiología Humana
Cuarta edición, ed. El Ateneo, Argentina, 1969.
- 19) RICHMOND, W.
Preparation and properties of cholesterol oxidase from nocardia sp and it's application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. Clin., - - -
Chim., 19/12 Págs. 1350-1356 1973.
- 20) ARMSTRONG, M.L., WARNER, E.D., and CONNOR, W.E.
Regression of coronary atheromatosis in rhesus monkey., Circ. Res. 27:59, 1970
- 21) ALBALUSTRI, Ma. L., GARCIA, Ma. E., y FERNANDEZ, LIA G.
Determinación de triglicéridos, Colesterol y ácido úrico. Acta bioquímica-clínica Latioamericana., Vol. XI Núm., 27-35, 1977.
- 22) TIETZ, N.W.
Química Clínica Moderna
Ed. Interamericana, México, 1970

- 23) GUYTON, ARTHUR C.
Tratado de Fisiología Médica
Cuarta edición, Ed. Interamericana
Págs. 847-857, México 1971.
- 24) OLSON, J.A.
Lipid Metabolism, Ann., Rev., Biochem.
35:559-598, 1966.
- 25) BABSON, A.L., SHAPIRO, D.O., and PHILLIPS, G.E.
Clín., Chim., Acta 7:800, 1962
- 26) BLOOR, W.R.J.
Biol. Chem., 24:227, 1916
- 27) Métodos Seleccionados de Análisis Clí-
nicos Vol., V, Págs., 110-119., Ed. --
Aguilar, 1969.
- 28) BROWN, W.E.
Errors in the determination of serum -
cholesterol. Aust. J. Exp., Biol., 39-
209, 1961.
- 29) GANONG, WILLIAM F.
Manual de Fisiología Médica
Cuarta edición, Ed. El Manual Moderno
Págs. 251-259, México, 1974.
- 30) BLOCH, K.
The Biological Synthesis of choleste-
rol Science, 150:19-28, 1965.
- 31) DANSON, R.M., and RHODES, D.W.
Metabolism and Physiological Signifi-
cance of lipids, John Willey and Sons,
Inc., Nueva York, 1963.
- 32) RODRIGUEZ DE ROMO, A.C. y RIVERA, P.
Determinación Cuantitativa de Coleste-
rol y Triglicéridos de las lipoproteí-
nas por precipitación con polianiones.
Rev., Mex. Pat., Clin., Vol. XXVIII, -
Núm. 2, 45-49, 1978.

- 33) FASCE, C.F., and VANDERLINDE, R.E.
Factors affecting the results of serum cholesterol determination. An inter-laboratory comparison. Clin., Chem., 18 901, 1972.
- 34) DANIELSSON, H., and TCHER, T.T.
Ateroid Metabolism, en D.M. Greenberg, ed., Metabolic Pathways, tercera ed., Vol. 2, Págs., 117-168, Academic Press Inc., Nueva York, 1968.
- 35) BANCROFT, HULDAH
Introducción a la Bioestadística
Ed. Universitaria de Buenos Aires Argentina, 1969, Págs. 55-191
- 36) HOLT, P.R.
The Roles of bile acids during the process of normal fat term. Med., 130:574 1972.
- 37) CUATRECASAS, P.
Membrane receptors, Ann., Rev., Biochem., 43:169, 1974.
- 38) SLADTMAN, T.C., CHERKES, A. and ANFENSEN, C.B.
Studies on the microbiological degradation of cholesterol. J., Biol., Chem., 206, 511, 1954.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS FIGURAS Y CUADROS

- Fig. 1) HARPER, HAROLD A., RODWELL, V.W. and MAYER, P.
Manual de Química Fisiológica
Sexta edición, Ed. El Manual Moderno S.A.
Pág. 343, México 1978.
- Fig. 2) HARPER
Manual de Química Fisiológica
Pág. 344.
- Fig. 3) WHITE, A. PH.D., HANDLER, P. PH.D. and SMITH, E. PH
Principios de Bioquímica
Ed. Libros McGraw-Hill, Cuarta edición
Pág. 521, México 1977.
- Fig. 4)
Principios de Bioquímica
Pág. 522, México 1977
- Fig. 5) LEHNINGER, ALBERT L.
Bioquímica
Ed. Ediciones Omega, S.A.
Pág. 568, Barcelona 1977
- Fig. 6)
Bioquímica
Pág. 568, Barcelona 1977.

Fig. 7) MONTGOMERY, R., DRYER, R., CONWAY, T. and SPECTOR, A
Biochemistry
A Case-Oriented Approach
Second Edition, Ed. The C.V. Mosby Com-
pany, Saint Louis, Pág. 479, 1977.

Fig. 8) BHAGAVAN, N.V., PH.D.
Biochemistry a Comprehensive Review
Ed. J.B. Lippincott Company, Pág. 661
Philadelphia, 1974.

Fig. 9) Biochemistry
A Case-Oriented Approach
Pág. 512

Cuadro A HARPER, HAROLD A., RODWELL, VICTOR W. and Mayer, P.
Manual De Química Fisiológica
Pág. 128.